

Univ. Exchange

DEC 15 1927

Lane Medical Library

**Over de curatieve en preventieve waarde van
den Bacteriophag (d' Hérèlle) bij enkele
infectieziekten der dieren**



A. DOEGLAS

1926-27

OVER DE CURATIEVE EN PREVENTIEVE
WAARDE VAN DEN BACTERIOPHAAG
(D' HÉRELLE) BIJ ENKELE INFECTIE-
ZIEKTEN DER DIEREN

OVER DE CURATIEVE EN PREVENTIEVE WAARDE VAN DEN
BACTERIOPHAAG (D' HÉRELLE) BIJ ENKELE INFECTIE-
===== ZIEKTEN DER DIEREN =====

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE
AAN DE RIJSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP
GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. A.
NOORDT Zij, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT
DER GODGELEERDHEID, VOLGENS BESLUIT VAN
DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE
BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER VEE-
ARTSENIJKUNDE TE VERDEDIGEN OP **VRIJDAG**
11 FEBRUARI 1927, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR,

DOOR

== **AUGUST DOEGLAS** ==

DIERENARTS, GEBOREN TE GOMBONG



1926-27

1927

DRUKKERIJ FIRMA SCHOTANUS & JENS, UTRECHT

Aan mijn Ouders.
Aan mijn Verloofde.



Digitized by the Internet Archive
in 2025

Gaarne maak ik van de hier geboden gelegenheid gebruik om U, Hoogleraren, Lectoren, Conservatoren, Prosectoren en Assistenten, voor het onderwijs en de leiding tijdens mijn studie aan de Veeartsenijkundige Hoogeschool mijn welgemeenden dank te betuigen.

Voor al U, hooggeachte Promotor, Professor DE BLIECK, dank ik voor de hulp en steun, verleend bij het verrichten mijner onderzoekingen en bij het samenstellen van mijn proefschrift.

Ook U, Professor SCHORNAGEL, Dr. HOOGLAND en TEN THIJE dank ik voor de hulp, die ik van U mocht ondervinden.

Ook de collegae VAN DER KAAIJ, BARMEN 'T LOO, OSKAM, TAP, WINTER en DE JONG betuig ik mijn dank voor de verleende hulp in de praktijk.

Aan U, Dr. VAN HEELSBERGEN en Dr. BAUDET, betuig ik mijn dank voor de prettige samenwerking.

Tenslotte spreek ik hier mijn dank uit aan het technisch personeel, verbonden aan het instituut en aan allen, die verder medegewerkt hebben tot het samenstellen van dit proefschrift.

INHOUD

Hoofdstuk	Bladz.
Inleiding	11
I. Literatuur over het wezen van den Bacteriophagaag.	13
II. Literatuur betreffende de toepassing van den Bacteriophagaag.	20
III. Methode van onderzoek	24
IV. Preventieve en curatieve werking van den Bacteriophagaag bij:	
A. Bac. Pullorum infectie van de kuikens	27
Beschrijving der ziekte	27
Bijzonderheden van de gebruikte Bacteriophagen.	32
Resultaten bij kunstmatige en natuurlijke infectie in het laboratorium	35
Resultaten in de praktijk	53
Beschouwingen en conclusies	56
B. Vlekziekte van de varkens	63
Beschrijving der ziekte	63
Versterking van den Vlekziekte-Bacteriophagaag tegen andere stammen	67
Experimenten bij kleine proefdieren	69
Preventieve werking bij varkens	75
Curatieve werking bij varkens	82
Beschouwingen en conclusies	89
C. Colibacillosis bij kalveren	91
D. Paratyphus bij biggen	100
E. Paratyphus bij muizen	104
V. Geraadpleegde Literatuur	108

INLEIDING

Na de publicatie van *d' Hérelle* hebben vele onderzoekers de verschillende eigenschappen van den Bacteriophagaag bestudeerd, vooral om de meening van *d' Hérelle*, dat de Bacteriophagaag een levend wezen zou zijn te toetsen. Vaak beschouwt men den Bacteriophagaag niet als een levend, zelfstandig wezen, maar men tracht de verschijnselen te verklaren, door deze toe te schrijven aan de werking van een lysine. Onder tusschen heeft nog niemand beslissende feiten tegen de theorie van *d' Hérelle*, waarin deze den Bacteriophagaag als een parasiet der bacteriën beschouwt, kunnen aanvoeren en daar deze theorie de eenvoudigste is, en de verschijnselen het gemakkelijkst verklaart, zal ik in het vervolg aan deze theorie vasthouden.

De ruime perspectieven, die het onderwerp der Bacteriophagie voor de diergeneeskunde opent, waren aanleiding tot mijn onderzoekingen, welke zich niet zoozeer met het wezen van den Bacteriophagaag bezig hielden, als wel met de betrekking van Bacteriophagaag tot bacterie en gastheer der bacterie onderling, dus over de eventueele preventieve of curatieve waarde van den Bacteriophagaag bij infectieziekten.

Over de literatuur omtrent het wezen en de eigenschappen van den Bacteriophagaag is het mijn bedoeling zeer kort te zijn. In hoofdzaak is het een résumé uit de dissertatie van *Kramer* (1925), waaraan de nieuwere literatuur is toegevoegd. De publicaties over de toepassing van den Bacteriophagaag zijn in een apart hoofdstuk uitgebreider behandeld.

Het hoofddoel mijner onderzoekingen was na te gaan, hoe de Bacteriophagaag bij de *Bac. Pullorum* infectie der kuikens

werkt. Deze ziekte, die vaak de kippenfokkerij met den ondergang bedreigt, kan nog niet op eenvoudige wijze bestreden worden, waardoor het van belang was te onderzoeken of de Bacteriophaga dit eventueel zou kunnen doen. Indien de Bacteriophaga curatief werkzaam zou zijn in dien zin, dat hij alle bacillen in het kuikenlichaam doodde, of indien hij slechts de nog niet geïnfekteerde kuikens tegen de besmetting beschutte, zou namelijk de omslachtige bestrijdingsmethode door bloedonderzoek van de kippen overbodig worden.

Tegen vlekziekte bestond reeds een Bacteriophaga, welke echter niet polyvalent was. Toen het mij gelukte dezen Bacteriophaga polyvalent te maken, was het van belang te onderzoeken of deze Bacteriophaga curatief of preventief werkzaam was, hoewel voor deze ziekte reeds uitstekende middelen bestonden. Immers, indien de Bacteriophaga curatief of preventief werkzaam zou blijken te zijn, zou de Bacteriophaga het veel duurdere serum kunnen vervangen.

Hetzelfde geldt voor Colibacillosis der kalveren en Paratyphus der biggen, terwijl de Paratyphus der muizen een mooi studieobject voor de werking van den Bacteriophaga in het dierlijk lichaam zou kunnen vormen.

HOOFDSTUK I

LITERATUUR OVER HET WEZEN VAN DEN BACTERIOPHAAG

Voor *d' Hérelle* het bestaan van den Bacteriophaga aantoonde, hadden reeds enkele andere onderzoekers zijn werking gezien, zonder er echter de waarde aan te hechten, die *d' Hérelle* er aan gegeven heeft. Zoo constateerde *Hankin* de antiseptische werking van het Gangeswater op de choleravibrio. *Twort* zag „plages” bij een *Micrococcencultuur* op agar.

d' Hérelle zag de werking voor het eerst bij een patiënt lijdende aan Shigadysenterie. Om den Bacteriophaga te verkrijgen werd als volgt gehandeld: 10 gr. faeces werden in een buisje bouillon verdeeld, 8—12 uur in de broedstoof gezet en daarna gefiltreerd door een Chamberlandkaars. Enkele druppels van dit filtraat werden in een buisje bouillon gedaan, dat vooraf met Shigabacillen geënt was. Het buisje werd eerst troebel, maar na eenige uren helderde het weer op. Door weer te filtreeren kon hij met dit nieuwe filtraat een buisje ophelderen. Dit was steeds te herhalen (passages en série). Door weinig filtraat bij bacillenhoudende bouillon te doen, en hiervan een agarbuis te enten, zag hij in de cultuur enkele steriele ronde plekken (plages) optreden, waaruit ook weer Bacteriophaga te kweken was. In de plages zag hij een methode om den Bacteriophaga te tellen. Daarmee kon bewezen worden dat de Bacteriophaga zich vermeerderd, hetgeen ook al gebleken was uit de passages en série. Ook bleek dat de Bacteriophaga zich alleen ten koste van levende bacteriën vermeerderd.

De theorie, die *d' Hérelle* hierover opgesteld heeft is de volgende: de Bacteriophaga scheidt een lysine af dat de bacteriën aantast, waarschijnlijk door het ectoplasma van de bacteriën te lossen. Hierna kan de Bacteriophaga indringen en zich in het bacterielichaam vermeerderen.

Toen *d' Hérelle* het proces onder het ultramicroscop vervolgde zag hij de bacterie opzwellen en op dit moment waren er 10—20 lichtende puntjes in het bacterielichaam waarneembaar. Dit zouden de afstammelingen van den ingedrongen Bacteriophaga zijn. Kort daarna barstte de gezwollen bacterie en de 10—20 maal vermenigvuldigde Bacteriophaga kwam vrij om andere bacteriën aan te vallen. De jonge bacterie heeft een dunne kapsel, waar de Bacteriophaga gemakkelijk door heen dringt. Hiermee wordt verklaard, dat de Bacteriophaga zich alleen vermeerdert in groeiende culturen, waar zich dus veel jonge bacteriën in bevinden.

De lysis van de bacteriën verloopt het beste bij 37—41°. Antiseptica, die geen invloed hebben op den Bacteriegroei, oefenen ook geen invloed uit op den Bacteriophaga. Zoodra ze den bacteriegroei remmen, vermindert ook de snelheid der lysis en der vermenigvuldiging van den Bacteriophaga.

In de bouillon komen de opgeloste bacterie-eiwitten voor. Deze worden nog, nadat de lysis volkomen en de bouillon geheel opgehelderd is, veranderd, zonder dat ze echter hun immuniseerende kracht verliezen. Dit blijkt bij den Shiga-bacteriophaga: kort na de lysis is hij bijna even toxisch als een emulsie van gedoode bacteriën, maar is de Bacteriophaga 14 dagen oud, dan is ze reeds nagenoeg atoxisch. Met deze atoxische vloeistof is het echter nog steeds mogelijk te immuniseeren.

De virulentie van een Bacteriophaga voor een bacterie is door passages met die bacterie tot een zekeren graad te verhoogen. Vaak vormen zich secundaire culturen; na de oplossing volgt opnieuw groei, doordat enkele bacteriën uit de emulsie resistent zijn of dit worden tegen den Bacteriophaga, zich vermenigvuldigen en een eveneens resistente nakomeling-schap leveren. Hoe virulenter een Bacteriophaga is, des te

kleiner percentage resistente bacteriën, zoodat een zeer virulente Bacteriophagaag een bacterie-emulsie kan steriliseeren. Ent men een secundaire cultuur over, dan ent men, naast bacteriën ook Bacteriophagaag over. Men krijgt een gemengde cultuur, welke te beschouwen is als een labiel evenwicht tusschen bacterie en Bacteriophagaag. Bij voortdurend overenten kan dit lang blijven bestaan, of een van beiden kan de overhand krijgen en de andere uit de cultuur doen verdwijnen.

Dezelfde Bacteriophagaag kan vaak op meerdere bacteriestammen en bacteriesoorten werken. Hierbij onderscheidt men homogene en heterogene bacteriesoorten, b.v. de Shigabacil is homogeen; werkt een Bacteriophagaag op één Shigastam, dan werkt hij ook op alle andere Shigastammen in meerdere of mindere mate. De Colibacil is heterogeen; de Bacteriophagaag werkt op één of enkele stammen en laat andere stammen onaangetast.

De Bacteriophagaag verhoogt belangrijk de opsonische index voor de bacterie, die hij op kan lossen. Het door den Bacteriophagaag afgescheiden lysine, dat de bacteriekapsel aantast laat zich, zonder dat het zwaar beschadigd wordt, met alcohol neer slaan, waarbij de Bacteriophagaag gedood wordt. Dit neergeslagen, afgefiltreerde en weer in physiologische keukenzout-oplossing opgenomen lysine heeft ook het vermogen de opsonische index te verhoogen, zooals uit proeven in vitro blijkt. De verhooging van de opsonische index zal dus wel alleen door het lysine en niet door den Bacteriophagaag zelf veroorzaakt worden.

De literatuur na het boek van *d' Hérelle* (1921) loopt hoofdzakelijk over de vraag of de Bacteriophagaag al of niet een levend wezen is. *d' Hérelle* stelde een aantal definities op, waaraan het leven gebonden zou zijn; assimileeren en desimileeren, vermenigvuldiging en zich aanpassen aan veranderde omstandigheden; aan al deze definities voldeed de Bacteriophagaag, zoodat *d' Hérelle* hem als een levend wezen beschouwt.

Andere auteurs trachten de werking van den Bacteriophagaag

te verklaren, door het proces te beschouwen als een autolyse der bacteriën, bij welke autolyse een tryptisch ferment uit de opgeloste bacteriën vrijkomt, dat de overige bacteriën weer oplost. Met deze theorie worden alle feiten verklaard, behalve dat de Bacteriophaga corpusculair is. Dat dit het geval is blijkt uit de plagevorming, en uit het feit dat de Bacteriophaga niet door agar diffundeert.

Bail's theorie houdt wel rekening met den corpusculairen aard van den Bacteriophaga. Hij veronderstelt in een bacteriekern deelen, die de assimilatie, en deelen, die de desimilatie der cel regelen. In een normale cel zouden deze in de juiste verhouding voorkomen. Onder invloed van de verweermiddelen van het lichaam van den gastheer zouden de, de desimilatie regeerende kerndeelen echter gaan woekeren, waardoor de desimilatie sterk verhoogd wordt, en de bacterie oplost. Hierbij komen de woekerende kerndeelen vrij als bacterie-, „Splitter”. Deze kunnen bacteriefilters passeeren en andere bacteriën aantasten en weer oplossen. Werpt een bacterie als strijdmiddel tegen die „Splitter” zijn, de desimilatie regeerende, kerndeelen uit, dan krijgt men abnormale vormen, de resistente bacteriën. Tegen deze theorie strijdt echter het feit, dat de Bacteriophaga niet specifiek is voor een bepaalde bacterie, maar tevens werkzaam kan zijn op andere bacteriesoorten, en het feit, dat alle Bacteriophagen in het dierlichaam identieke antilichamen geven, waaruit men moet concludeeren, dat zij uit een zelfde soort eiwit zijn opgebouwd, wat niet het geval zou wezen, als ze uit verschillende bacteriekernen waren ontstaan. Voor beide theoriën zou het feit pleiten, dat alleen jonge, nog groeiende bacteriën aangetast worden, dus bacteriën, waarbij assimilatie en desimilatie het sterkst zijn en waarbij veel tryptische fermenten in de cel voorkomen, Komen er nu nog buiten de cel van deze fermenten voor dan zou de cel oplossen.

In den nieuweren tijd zijn nog 2 hypothesen verschenen, die echter eveneens niet alle feiten dekken. *Rosenthal* wil het proces beschouwen als een sporogemie, waarbij de Bac-

teriophaag de spoor der bacteriën zou zijn. *Gohs* tracht in een gedocumenteerd artikel te bewijzen, dat het phaenomeen van *d' Hérelle* een anaphylaxie van de bacteriën is.

Borchardt zocht naar de plaats in het lichaam waar de Bacteriophaag voor het eerst ontstond. Immuuenserum met bacteriën samengebracht gaf geen Bacteriophaag. Een konijn, dat met bacteriën gevoerd werd, kreeg een Bacteriophaag tegen die bacteriën in zijn faeces. Hij trachtte nu de plaats, waar de Bacteriophaag voor het eerst optrad, bij fistelhonden vast te stellen. Dit bleek het duodenum te zijn; verderop in den darm werd de Bacteriophaag steeds zwakker. Nam hij door enterokinase geëctiveerd trypsinogeen, dan kon hij ook een Bacteriophaag opwekken. Met enterokinase of trypsinoogeen afzonderlijk gelukte dit niet. Met trypsine uit den handel kon ook een enkele maal Bacteriophaag bereid worden. *Borchardt* beschouwt trypsine als een factor, die de specifieke tryptische fermenten uit de bacterie vrij maakt en daarmee de lysis opgang zet.

Flu kon deze resultaten niet bevestigen. Het bleek dat trypsine deze eigenschap alleen dan heeft, als reeds van te voren Bacteriophaag in den darm van het dier, waaruit het trypsine bereid wordt, aanwezig is.

Bordet en *Ciuca* meenen, dat de leucocyten een proferment bevatten, dat de bacteriolysis op gang zet, terwijl de lysis blijft voortduren bij de passages en série door de vrijkomende tryptische fermenten uit de opgeloste bacteriën. Zij kwamen tot deze theorie op grond van het feit, dat een cavia, die intraperitoneaal met *Colibacillen* was ingespoten, na eenigen tijd in de leucocyten houdende vloeistof in de buikholte een Bacteriophaag vertoonde. Deze kon echter gemakkelijk uit den darm in de buikholte komen, al of niet door de leucocyten versleept, en daarna zijn werking op de *Colibacillen* ontplooid hebben (*Sumiyoshi*).

Een ander voorbeeld uit dezen strijd is het volgende: *Gildemeister* en *Herzberg* onderzochten een gemengde *Coli*-cultuur. Deze bleek een Bacteriophaag te bevatten, welke

zeer sterk werkte op Shiga-bacillen. Voor het onderzoek op de aanwezigheid van dezen Bacteriophagaag werden de Colibacillen in de bouilloncultuur bij 58° gedood en enkele druppels van deze cultuur bij een emulsie van Shigabacillen gevoegd, die dan opgelost werden. De Colicultuur werd bij 9° C. gekweekt en na elke passage op boven omschreven methode op de aanwezigheid van den Bacteriophagaag onderzocht. Deze bleek na 2—3 passages niet meer in de Colicultuur aantoonbaar. Kweekte men nu de Colicultuur, waaruit de Bacteriophagaag verdwenen was weer bij 37° , dan was hij er na enkele passages weer in aantoonbaar. Hieruit werd geconcludeerd, dat de Bacteriophagaag geen zelfstandig wezen is, maar uit de bacteriën ontstaan, dus dit zou een bewijs zijn, dat de Bacteriophagaag geen levend wezen is.

Flu herhaalde deze proeven, maar hij volgde voor het aantoonen van den Bacteriophagaag 2 methoden: namelijk de methode van *Gildemeister*, waarbij de Colibacillen geëlimineerd werden door hen bij 58° te dooden en daarnaast de methode van *d' Hérelle*, waarbij de bacillen geëlimineerd werden, door hen door filtreeren te verwijderen. Nu bleek dat na 4 passages bij 9° de Bacteriophagaag volgens de methode van *d' Hérelle* nog steeds aantoonbaar was; hij was echter zoo verzwakt, dat hij door de temperatuur van 58° gedood werd, waardoor hij volgens de methode van *Gildemeister* niet meer aangetoond kon worden. Na 12 passages bij 9° was de Bacteriophagaag aan de veranderde omstandigheden gewend en kon nu ook weer volgens de methode van *Gildemeister* aangetoond worden. Hiermee was bewezen, dat de Bacteriophagaag nooit uit de cultuur verdwenen was, maar alleen maar door het kweken bij 9° zeer verzwakt werd. Bovendien had hij zich aan de veranderde omstandigheden aangepast, zoodat hij na de 12de passage weer op volle sterkte was. Dit was dus een aanwijzing voor de zelfstandigheid en de levende natuur van den Bacteriophagaag.

Over de eigenschappen van den Bacteriophagaag zijn ook vele onderzoekingen gedaan. De Bacteriophagaag kan overal

voorkomen: in faeces, vleesch, aarde, rivierwater. Men moet echter bij het aantoonen ervan zeer voorzichtig zijn, daar men de te onderzoeken stof zeer gemakkelijk kunstmatig met Bacteriophaga besmet. Faeces zou volgens *Wolff* en *Janzen* een stof bevatten, die de werking van den Bacteriophaga remt. Om zeker te zijn, dat men met Bacteriophagawerking te doen heeft, zou men plagues moeten zien (*Watanabe, Ball, Otto* en *Munter*). De grootte van den Bacteriophaga is langs verschillende wegen bepaald en alle uitkomsten komen overeen dat hij 20—30 μ groot is. Dat de Bacteriophaga corpusculair is blijkt ten eerste uit de plagues en ten tweede uit het feit, dat hij niet door agar diffundeert (*Flu*). Ook zijn resistentie is onderzocht. Deze is variabel binnen zekere grenzen voor verschillende stammen en individuen, maar is in het algemeen grooter dan die der bacteriën en kleiner dan die der sporen. Ook kan men den Bacteriophaga aan schadelijke invloeden wennen. Door absorbeerende stoffen wordt de Bacteriophagawerking geremd, b.v. colloïden, agar, gelatine, serum en stoffen in colloïdale oplossing (*Gratia, Jaumain, Appelmans, Doerr*). *Bruynoghe* en *Maisin* ontkennen dat serum remmend zou werken. De virulentie van een Bacteriophaga voor andere bacteriën kan men soms door passages met die bacteriën verkrijgen of versterken. Een Bacteriophaga is echter niet tegen elke willekeurige bacterie werkzaam te maken. *Hauduroy* vermeldt, dat indien hij een buis, waarin secundaire groei was opgetreden, filtreerde, hij het filtraat niet steriel bevond. Er bevonden zich granula in, die weer tot bacillen uit konden groeien.

De meeste Bacteriophagen zijn door *d' Hérelle* ontdekt, namelijk de Bacteriophagen tegen Coli, Typhus, Paratyphus, Dysenterie, Kleinsche ziekte, Pest, bacillaire Cholera en haemorrhagische septicaemie. *Gratia* vond een Bacteriophaga tegen streptococcen en staphylococcen, *Pesch* tegen miltvuur, *Lisch* tegen pyocyaneusbacillen, *Flu* tegen Choleravibrionen, *Mieschner* tegen vlekziekte, *Meier* meent ook een Bacteriophaga tegen het virus van mond- en klauwzeer te hebben gevonden.

HOOFDSTUK II

LITERATUUR BETREFFENDE DE TOEPASSING VAN DEN BACTERIOPHAAG

Over dit onderwerp is nog betrekkelijk weinig literatuur verschenen, misschien omdat de meeste onderzoekers met bij menschen voorkomende ziekten werkten, waardoor men niet zooveel en niet zoo vrij, materiaal ter beschikking heeft als bij dierproeven het geval is.

Volgens *d' Hérelle* zou de stand van den strijd tusschen de bacterie en den Bacteriophagaag zich openbaren in den toestand van den patiënt. Treedt er geen Bacteriophagaag op, dan gaat de ziekte gewoon voort. Treedt er een voldoende virulente Bacteriophagaag op, dan geneest de patiënt; wordt daarna echter de bacterie weer resistent dan volgt weer instorting van den zieke. Treedt er een blijvend evenwicht tusschen de bacterie en den Bacteriophagaag op, dan gaat de patiënt cachectisch ten gronde.

In een epizoötie speelt de Bacteriophagaag ook een voorname rol; zoodra er een Bacteriophagaag van voldoende virulentie optreedt, beteekent dit vaak het einde der epizoötie, want onder gunstige omstandigheden zal de Bacteriophagaag zich snel over de besmette landstreek verspreiden.

Spuut men een dier met Bacteriophagaag in, dan krijgt men anti-lichamen tegen de opgeloste bacterie-eiwitten (endotoxinen), afscheidingsproducten van de bacterie (ectotoxinen) en tegen den Bacteriophagaag en zijn producten (lysine). Bij Buffel-septicaemie immuniseerde *d' Hérelle* met Bacteriophagaag, waarbij

hij waarnam, dat het dier eerst als het ware passief immuun was, door de aanwezigheid van den Bacteriophraag. Daarna kreeg men een periode van overgevoeligheid, die des te langer duurde naarmate men meer Bacteriophraag had geïnjicieerd. Tenslotte kreeg men een grondige langdurige actieve immuniteit. Om de periode van overgevoeligheid zoo kort mogelijk te maken spoot hij de dieren slechts 0.25 cc. in waarbij toch een zeer grondige immuniteit optrad, die ruim een jaar duurde.

Bij Dysenterie van den mensch verkreeg *d' Hérelle* gunstige resultaten bij toediening per os. Dit werd bevestigd door de experimenten van *Da Costa Cruz*, *Spence* en *Mc Kinley*, *Otto* en *Munter*; *Winkler* en *Davisson* kregen daarentegen geen resultaat, wat misschien te wijten was aan een Bacteriophraag van onvoldoende virulentie.

Typhus van den mensch is een heterogene stam en levert daardoor moeilijkheden bij de behandeling. *Wolff* en *Janzen* werkten met een mengsel van 2 Bacteriophagen, die samen alle stammen oplosten. *d' Hérelle*, *Beckerich* en *Hauduroy* verkregen bij deze ziekte door toediening van Bacteriophraag in vele gevallen een snelle daling van de temperatuur met zweten, waarna volledig herstel optrad. *Herderschee* en *Wolff*, *Ciuca* en *Manoliu*, *Allesandrini* en *Doria* hadden minder gunstige resultaten en zagen in vele gevallen, dat de Bacteriophraag absoluut geen werking vertoonde. Ook de eerst genoemde auteurs kwamen enkele van zulke gevallen tegen. Een verklaring hiervoor is nog niet gegeven. *Appelmans* behandelde bacillendragers met Bacteriophraag, echter zonder enig succes.

Paratyphus bij den mensch kon in enkele gevallen genezen worden door toediening van Bacteriophraag. *Mieszner* en *Baars* konden echter geen therapeutisch succes met Bacteriophraag bij Paratyphus van varkens verkrijgen. Bij muizen gelukte dit ook niet. Epidemiologisch werd de werking van Bacteriophraag bij Paratyphus van muizen nagegaan door *Topley*. Deze kon geen verschil constateeren tusschen de wel en de niet met Bacteriophraag behandelde dieren. Bovendien bleek dat de Bacteriophraag vaak spontaan optrad.

Bij Kleinsche ziekte zag *d' Hérelle* een goede werking van den Bacteriophagaag, welke resultaten door *Kramer* bevestigd werden.

Bij Pullorum der kuikens kon *Norman* absoluut geen therapeutische werking van den Bacteriophagaag constateeren; wel zag hij, dat de contrôle-kuikens eenige dagen eerder stierven, zoodat daarbij de ziekte meer acuut verliep.

Bij Coli-infecties der urinewegen zagen *d' Hérelle*, *Hauduroy* en *Philibert* gunstige resultaten door toediening van Bacteriophagaag. *Newton* en *Sickenga* hadden echter minder succes. De laatste komt tot de conclusie dat de Bacteriophagaag weinig invloed uitoefent, daar de bacillen steeds resistent waren of het snel werden. In vele gevallen was reeds een Bacteriophagaag aanwezig.

Het meeste succes boekte men bij de behandeling van Staphylococceninfecties met Bacteriophagaag. Bijna zonder uitzondering had men hierbij succes, zooals de experimenten van *Bruijnoghe* en *Maisin*, *Gratia*, *d' Hérelle*, *Gourgerot* en *Peijre*, *Appelmans* en *Mc. Kinley* bewijzen. *Piorkowsky* vermeldt gunstige resultaten, verkregen met een streptococcenbacteriophagaag. *Otto* en *Munter* betwijfelen op grond van hun onderzoekingen het bestaan van dezen Bacteriophagaag, maar door *Dutton* werd het bestaan van den Bacteriophagaag bevestigd. De laatste kwam tot de conclusie, dat de meeste streptococcenculturen gemengde culturen waren; indien spontaan herstel optrad, zooals hij in vele gevallen zag, was dit te danken aan het feit, dat de betreffende stam niet resistent was en verdween door de aanwezigheid van een Bacteriophagaag.

Mieszner en *Baars* hadden met hun vlekziektebacteriophagaag absoluut geen resultaat. Noch als men den Bacteriophagaag tegelijk met de cultuur inspoot, noch als men de muizen met den Bacteriophagaag trachtte te imuniseeren, zag men enig verschil met de contrôlemuizen. Deze resultaten werden door *Kramer* bevestigd. Volgens *Mieszner* zou de oorzaak van dit onwerkzaam zijn van den Bacteriophagaag te wijten zijn aan de remmende werking van de serumcolloïden.

Meijer meent, dat de Bacteriophaga van mond- en klauwzeer bestaan zou en een goed therapeuticum bij deze ziekte zou zijn.

Vele onderzoekers betwijfelen de bruikbaarheid van den Bacteriophaga als geneesmiddel.

Zdansky wil de resultaten, verkregen met de inspuiting van Bacteriophaga, opvatten als een gevolg van de vaccinwerking. Ook *Seiffert* huldigt deze meening door te zeggen, dat de Bacteriophaga alleen daar werkt, waar vaccineeren ook werkt.

Doerr en *Grüninger* meenen, dat de Bacteriophaga in het organisme te veel verdund wordt om veel werking uit te oefenen. Zij toonden aan, dat de sterk verdunde Bacteriophaga in vivo de vorming van resistente bacteriën spoedig toelaat. *Bordet* en *Gratia* hadden dit reeds in vitro bewezen. *Wolff* en *Janzzon* toonden dit verschijnsel bij culturen in serum aan.

Colloïden remmen de werking van den Bacteriophaga, zooals door *Doerr*, *Berger*, *Brutsaert*, *Hauduroy*, *Mieszner* en *Nakamura* werd aangetoond.

Men vergeet echter vaak, dat in vivo de leucocyten ook een groote rol spelen, doordat de opsonische index zoo sterk verhoogd wordt door de aanwezigheid van reeds zeer geringe hoeveelheden Bacteriophaga.

HOOFDSTUK III

METHODE VAN ONDERZOEK

Voor het verkrijgen van een Bacteriophag werd de methode van *d' Hérelle* gevolgd. Faeces of eventueel ander materiaal werd in een hoeveelheid van 10—15 Gr. in een buisje bouillon gedaan en bleef 10—18 uur in de broedstoof staan. Daarna werd gefiltreerd, eerst door infuroriënaarde, daarna door een Chamberlandkaars L 3. 4 buisjes bouillon werden licht geënt met de betreffende bacterie (met 1 ose bouillon-cultuur) 1 buisje diende als contrôle, bij de andere 3 werd resp. 3, 5 en 10 druppels van het filtraat gevoegd. In een 5de buis werden alleen 10 druppels filtraat gedaan om te controleren of het filtraat steriel was.

De buizen werden niet, volgens de methode van *d' Hérelle* geënt, met 2 druppels van een agarcultuur, die met 20 druppels steriele bouillon was afgespoeld, omdat in dit geval een weinig talrijke Bacteriophag de cultuur niet oplost. De bacillen hebben, doordat ze zoo talrijk zijn, de voedingsbodem in weinige uren uitgeput en groeien dan niet meer, waardoor ze voor den Bacteriophag onaantastbaar worden. In dien tijd heeft de Bacteriophag geen gelegenheid om zich zoo te vermeerderen, dat hij de buis zichtbaar op kan helderen. Daardoor ziet men geen teekenen van de aanwezigheid van den Bacteriophag voor deze zich na eenige passages zoodanig vermeerderd heeft, dat er in eenige druppels filtraat voldoende Bacteriophag aanwezig is om een dikke bacterie-emulsie op te lossen, wat vaak 4 passages duren kan. Juist

in het filtraat van faeces of ander materiaal zal de Bacteriophaga vaak in klein aantal voorkomen.

Men kan boven beschreven geval ontgaan, door er veel van het filtraat of weinig bacillen bij te doen. De laatste methode is beter dan de eerste omdat in het filtraat van de faeces stoffen zitten, die de Bacteriophagawerking remmen en die men dus het beste in de geringst mogelijke concentratie aanwezig kan hebben.

Omdat ik aan een Bacteriophaga, die niet voldoende virulent was, om een bacillen-emulsie op te lossen, niets had, werd de methode van aantoonen van een Bacteriophaga door plagues niet gebruikt, ook al omdat deze methode omslachtiger is.

Na 6—10 uur was het contrôlebuisje meest troebel geworden, terwijl de andere buizen, indien er Bacteriophaga aanwezig was, helder waren gebleven. De Bacteriophaga had zich nu in al de buisjes een weinig vermeerderd, zoodat er om een talrijke Bacteriophaga te krijgen enkele druppels van een bouilloncultuur of afspoelsel van een agarcultuur bij bovengenoemde buizen werd gevoegd tot een lichte troebeling ontstond. Na 24 uur werd gefiltreerd en de 2de passage ingezet tegen een bacterieëmulsie van de sterkte, zooals die door *d'Hérelle* was aangegeven. Het voordeel dezer methode is, dat men, indien er een vrij virulente Bacteriophaga aanwezig is, deze reeds bij de eerste passage kan aantoonen.

Om de Bacteriophaga in groote hoeveelheden te bereiden, werden Erlemeyerkolfjes, welke elk 50 cc. bouillon bevatten, geënt met 10 druppels van een agarcultuur, die met 40 druppels bouillon was afgespoeld. Dit is relatief dunner dan in een bouillonbuisje, dat volgens de methode van *d'Hérelle* geënt is, maar ent men dikker, dan treedt voor de opheldering volkomen is, reeds secundaire groei in, zoodat men een niet geheel heldere cultuur moet filtreren, wat voor grootere hoeveelheden onmogelijk is. Doet men meer bouillon in de kolfjes, b.v. een halve liter, dan krijgt men het zelfde verschijnsel, tenzij men er zoo weinig bacteriën in doet, dat de cultuur te dun geënt is om den Bacteriophaga voldoende

te laten vermeerderen. Bij zoo'n geënt kolfje werden 40 druppels Bacteriophaghoudend filtraat gevoegd. Zoodra na 6—8 uur het kolfje geheel helder was, werd gefiltreerd.

Op grond van een paar proeven van *d' Hérelle* met zeer virulente Bacteriophag zou men van het snel optreden van secundaire culturen bij groote hoeveelheden normaal geënte bouillon de volgende verklaring kunnen geven: een zeker percentage van de bacteriën is resistent. Ent men 10 buizen met gelijke kleine hoeveelheden cultuur en zeer virulente Bacteriophag, dan zal b.v. een der buizen secundaire groei vertoonen, de overigen blijven helder omdat er geen resistente bacillen ingekomen zijn. Ent men nu met veel cultuur, zooals in de grootere kolven gebeurt, dan zal er altijd een resistente bacil bij zijn, die secundaire groei veroorzaakt. Deze verklaring is echter niet volkomen juist, want bij de door ons gebruikte bacteriestammen en minder virulente Bacteriophagen trad steeds secundaire groei op, zij het dan na langeren tijd, en in alle buizen trad deze groei gelijktijdig op. Hier zat, in alle buizen geënt met een kleine hoeveelheid cultuur, een even groot aantal resistente bacteriën en toch trad volkomen opheldering op, terwijl in de groote kolven met een even groot percentage resistente bacteriën geen opheldering en haast direct secundaire groei optrad.

HOOFDSTUK IV

PREVENTIEVE EN CURATIEVE WERKING VAN DEN BACTERIOPHAAG BIJ:

A. Bac. Pullorum Infectie van de kuikens

Beschrijving der ziekte

De epizoötische kippenziekten trokken eerst laat de aandacht van onderzoekers tot zich. Het eerst zijn ze in Italië bestudeerd, maar daar de bacteriologie nog niet ver genoeg gevorderd was (1875) om verschillende bacteriën goed te onderscheiden kunnen wij in hoofdzaak alleen op de klinische en sectie gegevens besluiten welke ziekten er bedoeld werden. Het handelt voornamelijk over Cholera en Kleinsche ziekte, waartusschen men toen ter tijd slecht onderscheid wist te maken. Eerst in de laatste jaren is de differentieel diagnostiek van deze ziekten verder gevorderd.

De bac. Pullorum veroorzaakt ziekte bij kuikens en kippen. Bij de kuikens treedt de ziekte meest acuut op, vaak een sterfte van 90 % gevend en daardoor de kippenfokkerij zwaar bedreigend. Bij de kippen heeft de ziekte een meer chronisch verloop, vaak zonder eenige symptomen.

De bac. Pullorum is een middelmatig groot staafje, niet sporenvormend, niet beweeglijk en Gram-negatief; melk wordt eerst verzuurd, later alcalisch, maar niet gecoaguleerd of gepeptoniseerd. Hij vermindert de zuurgraad van bouillon waarin maltose, dextrine, dulciet of andere koolhydraten zijn opgelost.

Men onderscheidt 2 variëteiten van *B. Pullorum*, namelijk één, die gas vormt uit dextrose en mannosebouillon: *Pullorum A*, en een, die dit niet doet: *Pullorum B*. Volgens *Hadley* is de *Pullorum A* zeer toxisch maar slechts weinig virulent en alleen pathogeen voor kuikens, *Pullorum B* is pathogeen voor hennen en kuikens beide. *Rice* meent daar en tegen dat *Pullorum A* en *B* variaties zijn van een soort bacteriën, die in elkaar kunnen overgaan.

Differentieel-Diagnostiek. Tegenover *bac. Gallinarum (Klein)*: Deze maakt melk meest direct alcalisch, soms wordt de melk heel in het begin iets verzuurd. De zuurgraad van maltose, dextrine en dulcietbouillon wordt verhoogd, maar hij vormt evenals *Pullorum B* geen gas uit koolhydraten.

Tegenover *Paratyphus B*: Deze vormt ook zuur in maltose, dextrine en dulcietbouillon, maar vormt tevens gas uit verschillende koolhydraten. Bovendien is hij sterk beweeglijk.

Tegenover *Paratyphus A*: deze vormt geen zuur uit xylose, wat alle 4 bovengenoemde soorten wel doen. Ook deze is beweeglijk. *Pullorum A* en *B* en *bac. Gallinarum* agglutineeren elkaar onderling geheel, maar *Paratyphus B* staat hiervan apart. *Paratyphus A* wordt vaak in hooge mate geagglutineerd door *Pullorum*serum.

Symptomen: Bij kuikens ziet men in de eerste levensdagen reeds sterfte optreden. In meer acute gevallen kan men vaak aan de kuikens niets zien, totdat ze plotseling in coma neervallen en kort daarna sterven.

Bij een langzaam verloop treedt diarree op.

Daarbij blijven de faeces aan het achterlijf kleven en vormen een koek, die soms de anus kan insluiten, zoodat verdere defaecatie onmogelijk wordt. Deze kuikens vermageren, zijn somnolent en hebben vaak een typisch voorkomen. De veeren staan op en de vleugeltjes hangen slap neer, vaak zijn de slagpennen van de vleugels krom gegroeid, doordat ze niet langs het lijf groeien en zoo recht gehouden worden. Boven-

dien hebben de dieren vaak een vergroot en uitgezet abdomen, waardoor het lijkt of de rug korter is. In sommige gevallen ziet men weinig diarrhee, dan is de somnolentie en soms het bovenbeschreven voorkomen het eenige waaraan men de kuikens kan herkennen. Zijn de kuikens eenmaal 4 weken oud, dan treedt er weinig sterfte door Pullorum meer op, maar de kuikens, die ziek geweest zijn, leveren meestal besmette hennen op.

Bij de hennen heeft men meestal een chronische ziekte. Volgens *Hadley* zou de ziekte ook acuut kunen optreden in in een op Kleinsche ziekte gelijkende vorm.

In chronische gevallen treedt vermagering op, vaak ook met diarrhee, wat langzaam tot den dood voert, soms eerst na eenige weken.

In andere gevallen is er klinisch aan de dieren niets te merken, hoogstens eenige vermindering in de eierproductie wat echter moeilijk als symptoom is aan te merken, daar de dieren meest jong geïnfecteerd zijn en dus altijd slechte legsters zijn geweest.

Sectie: Bij de sectie van kuikens ziet men, zoo deze jonger dan 1 week zijn meest weinig; soms een geringe ontsteking van gedeelten van het darmkanaal en een lichte stuwung van de lever, vaak streepsgewijs. Is de anus door een faeceskoek gesloten, dat ziet men een ectasie van de cloaca. Zoo men in dit stadium op het sectiebeeld moeilijk tot Pullorum kan besluiten, omdat het beeld zoo weinig zien laat, des te gemakkelijker valt het de bacterie er uit te kweken, daar deze meest rijkelijk en in reincultuur in de nog groote dooierrest voorkomt. Bij de zieke kuikens is deze vaak te groot voor den leeftijd van het kuiken. De kleur en consistentie zijn zeer wisselend: geel, roodachtig, groen, zwart en van dunvloeibaar tot kruimelig. Slechts zelden is stank aanwezig.

Zijn de kuikens ouder dan 1 week, dan komen reeds de necrotische haardjes tevoorschijn, voornamelijk in hart, lever, long en nieren. Deze haardjes komen voor als gelig-witte speldeknoop- tot rijstkorrelgrootte puntjes en zijn typisch voor

Pullorum. Soms confluëeren zij tot eene massa, vooral aan het hart, dat er dan geheel door omgeven is. Dan is het pericard meest ook verdikt en ten deele met het hart vergroeid. In het pericard bevindt zich vaak een overmatige hoeveelheid sereuze vloeistof.

Bij de kippen is de ziekte voornamelijk gelocaliseerd in de geslachtsorganen: ovariën en eileider. Enkele dooiers zijn veranderd; deze veranderingen zijn van verschillend karakter. Soms ziet men dooiers, welke lichtgeel zijn en een dunvloeibaren inhoud met klonten hebben, andere zijn donkergeel, deegachtig van consistentie, verschrompeld en hebben vaak den bolvorm verloren, sommige zijn haemorrhagisch en zwart verkleurd. Vaak vindt men dooiers in de buikholte verdwaald; sommige hiervan breken door, andere worden in hun geheel geresorbeerd. Zij zijn vaak de oorzaak van een peritonitis.

De eileider is vaak ontstoken, oedemateus en rood van kleur. Verder vindt men vaak een peritonitis en fibrineophooping en sereus vocht in de buikholte.

De lever is soms geelachtig, soms roodbruin van kleur, en bros. In chronische gevallen vindt men aan de oppervlakte ervan een enkele maal witte onstekingshaarden. Vaker vindt men deze haarden in het hart.

Uit al de aangetaste organen kan men de bacil meest rijkelijk kweeken, vooral uit de eidooiers.

Sommige auteurs achten de *Bac. Pullorum* en de *Bac. Gallinarum* variëteiten van één bacteriestam. *Hadley* kon met een stam van *Bac. Pullorum* bij volwassen kippen een epidemie opwekken, welke volkomen geleek op die van *Bac. Gallinarum*.

Infectie: De infectie grijpt plaats in een *circulus viciosus*: Hen—ei—kuiken—hen. De grootste sterfte vindt men bij de kuikens, maar ook reeds in het ei laten vele kuikentjes het leven, vaak 20—50 % al naar gelang de sterkte van de besmetting der kippen. Van de besmette kuikens die uitkomen, is een zeker percentage besmet; dit percentage is meestal nog al klein, afhankelijk van het aantal besmette eieren en

van de grootte der sterfte in het ei. Deze geïnfecteerde kuikens besmetten hun omgeving met de faeces, en, door de gewoonte van kuikens om elkanders versch gedeponeerde faeces op te pikken en aan de korsten aangekleefde faeces van de zieke kuikens te pikken, verspreidt de ziekte zich snel onder de nog gezonde dieren. Uit proeven bleek, dat alleen, indien het kuiken in de eerste 3 dagen besmet wordt, het door de ziekte sterft. Treedt de besmetting later op, dan sterft het dier er meest niet meer aan, hoewel het wel tot een chronisch zieke kip opgroeit en besmette eieren levert. Ook een volwassen dier kan nog besmet worden, zoodat één besmette kip, met haar faeces de bacteriën verspreidend, vele dieren van een gezond toom kan aantasten. Op deze manier kan de haan ook de besmetting overbrengen, maar bij de copulatie doet deze het nog sterker.

Bijzonderheden van de gebruikte Bacteriophagen

Pullorum: De gebruikte Pullorumbacteriophagaag was de zoogenaamde B. Deze was afkomstig van kippen lijdende aan een chronische Pullorum B infectie. Verder was er nog een Bacteriophagaag A, welke afkomstig was uit een haan, hersteld van Pullorum A infectie en die later bij de kippen werd gezet, die besmette eieren voor de proeven leverden.

De B Bacteriophagaag bleek een groot aantal bacteriestammen uit de typhus-paratyphusgroep op te lossen. Hij tastte alle Pullorumstammen aan, enkele stammen waren resistent, maar de Bacteriophagaag vermeerderde zich toch in hun culturen. Dit werd als volgt nagegaan: 1 cc. Bacteriophagaag werd bij 3 buisjes welke elk 10 cc. bouillon bevatten gevoegd. Hierbij werd een emulsie van de te onderzoeken resistente bacteriën gedaan. Als contrôle dienden 3 buisjes elk met 10 cc. bouillon en 1 cc. Bacteriophagaag, waarbij geen bacteriën gedaan waren. Beide series werden gefiltreerd en leverden resp. filtraat 1 en contrôlefiltraat 1.

1 cc. van elk filtraat werd gevoegd bij 3 buizen elk met 10 cc. bouillon welke resp. wel en niet met een bacterie-emulsie geënt waren. Tevens werd elk filtraat onderzocht op de aanwezigheid van een Bacteriophagaag door er een paar druppels van bij een buisje bouillon te voegen, dat geënt was met een stam, die wel door den Bacteriophagaag werd opgelost. In de niet geënte bouillon vermeerderde de Bacteriophagaag zich niet. Gebeurt dit ook niet in de bouillon, die geënt is met de resistente te onderzoeken stam, dan zullen filtraat en contrôlefiltraat na een gelijk aantal passages zoo verdund zijn, dat de Bacteriophagaag niet meer aantoonbaar

is. Vermeedert de Bacteriophaga zich wel met de resistente stam, dan zal in het filtraat altijd nog Bacteriophaga in voldoende concentratie om dezen aan te toonen, aanwezig zijn, terwijl het contrôle filtraat na een zeker aantal verdunningspassages (meestal ongeveer 15) geen Bacteriophaga in aantoonbare concentratie meer bevat.

Voor men den resistenten stam op deze manier kan onderzoeken, moet men zekerheid hebben, dat hij geen gemengde cultuur is, van de betreffende resistente bacterie en van een willekeurigen anderen Bacteriophaga, die zich in de cultuur van die resistente bacil vermeedert, zonder die cultuur zichtbaar op te lossen, want indien deze willekeurige andere Bacteriophaga tevens de gevoelige stam, die dient voor het aantoonen van den Bacteriophaga, oplost, zou hij de proef doen mislukken.

De B Bacteriophaga loste ook een stam van de Bac. Paratyphi enteritidis Gärtner op, namelijk een zoogenaamde Rattincultuur. Verder werden 8 stammen van de Bac. Suipestifer aangetast en 5 hiervan opgelost. Een typhusstam van den mensch werd ook opgehelderd.

De A Bacteriophaga loste slechts enkele Pullorumstammen op, welke bij nader onderzoek allen Pullorum A stammen bleken te zijn.

Om te onderzoeken of dit altijd opging, werden 23 Pullorum B stammen en 6 Pullorum A stammen onderzocht. De Pullorum A stammen werden zoowel door den B als door den A Bacteriophaga opgelost, de Pullorum B stammen, op eene uitzondering na, werden door den B Bacteriophaga opgelost, maar niet door den A Bacteriophaga. Deze uitzondering betrof den stam E, de standaardcultuur uit een instituut te Londen, welke niet door den B Bacteriophaga werd opgelost, hoewel deze zich er wel in vermeederde, wat de A Bacteriophaga niet deed.

In onderstaande tabel zijn de uitkomsten van de proeven gegeven; onder de kolommen druivensuiker of melksuiker is het al of niet vergisten van druivensuiker of melksuiker aan-

gegeven en onder de kolommen Bacteriophag B en A het al of niet oplossen der culturen door deze Bacteriophagen. Deze beide Pullorumbacteriophagen zijn dus als een differentiëldiagnosticum tusschen Pullorum A en B te gebruiken.

Stam	Herkomst	Druiven- suiker	Melk- suiker	Bacteriophag	
				A.	B.
A.	Kuiken W.	—	—	—	+
B.	Kip v. V. Pullorum.	—	—	—	+
C.	Kip B. Pullorum. .	—	—	—	+
E.	Pullorumstam L. . .	—	—	—	+
F.	Kuiken P.	+	—	+	+
H.	Kip Kleinsche ziekte.	—	—	—	+
J.	Kuiken Aardenburg.	+	—	+	+
M. 2.	Kuiken België . . .	—	—	—	+
M. 3.	Kuiken België . . .	—	—	—	+
Q.	Bac. Klein. R'dam .	—	—	—	+
R.	Kip. Kleinsche ziekte	—	—	—	+
T.	Kuiken B.	—	—	—	+
W.	Kip. Laren. Pullorum	+	—	+	+
Y.	Kip. Putten. Pullorum	—	—	—	+
A.A.	Kuiken. K.	+	—	+	+
B.B.	Kip. Rhenen. Pull. .	—	—	—	+
C.C.	Kip. Barneveld. Pull.	—	—	—	+
E.E.	Kip. Ootmarsum. Pull.	—	—	—	+
F.F.	Kip. Uden. Pull. . .	—	—	—	+
G.G.	Kip. Uden. Pull. . .	—	—	—	+
H.H.	Kip. A'foort. Pull. .	—	—	—	+
I.I.	Kip. Ede. Pull. . . .	—	—	—	+
J.J.	Kip. A'foort. Pull. .	—	—	—	+
K.K.	Kip. Ede. Pull. . . .	—	—	—	+
M.M.	Kip. Barneveld. Pull.	—	—	—	+
N.N.	Kip. W. Pull.	—	—	—	+
A.1.	Kuiken. B.	+	—	+	+
A.2.	Kuiken. B.	+	—	+	+
A.3.	Kuiken. v. H.	—	—	—	+

Resultaten bij kunstmatige en natuurlijke infectie in het laboratorium

Bij deze proeven werd getracht of de Bacteriophaga een therapeutische of preventieve werking had. De proeven werden genomen met kunstmatige of met natuurlijke infectie, waarbij de eene helft der kuikens op verschillende manieren Bacteriophaga werd toegediend en de andere helft als controle diende. Deze 2 partijen kuikens werden in afzonderlijke kunstmoeders onder overigens geheel gelijke omstandigheden gehouden, waarbij steeds zooveel mogelijk getracht werd te voorkomen, dat Bacteriophaga van de daarmee besmette kuikens overgebracht werd naar de controlekuikens. Een natuurlijke infectie werd verkregen door eieren van Leghornkippen, welker bloed een suspensie van Pullorumbacillen in een verdunning van minstens 1 : 150 nog agglutineerde, uit te broeden. Er bleek steeds een groot percentage besmet te zijn. Bij deze witte kuikens werd een ongeveer gelijk aantal kuikens van gezonde kippen gebracht, en wel gemakshalve Barnevelders en Red-Islands, zoodat aan de kleur te zien was of de kuikens vanuit het ei reeds besmet waren of dat ze eerst daarna aan besmetting waren blootgesteld. Controle van de donkere kuikens om te zien of ze werkelijk niet geïnfecteerd waren werd niet noodig geacht, omdat de fokkerij waarvan zij betrokken werden als Pullorumvrij bekend stond en er nooit teekenen waren, dat de dieren vanuit het ei, reeds besmet waren: ze vertoonden nooit ziekteverschijnselen voor ze 3 dagen oud waren, terwijl de grootste sterfte eerst na 1 week optrad.

De gebruikte Bacteriophaga loste de meeste stammen op, slechts enkelen waren resistent tegen den Bacteriophaga. De

gestorven kuikens werden steeds onderzocht op verschijnselen, die op diarree wezen en op het voorkomen van haardjes in long, hart of lever. Bovendien werd uit elk kuiken een cultuur zooveel mogelijk uit de dooierrest aangelegd. Van tijd tot tijd werd een enkel contrôlekuiken op de aanwezigheid van Bacteriophag onderzocht, voornamelijk om na te gaan of er ook spontaan een Bacteriophag bij de contrôlekuikens optrad, waardoor deze onder dezelfde condities zouden komen als de met Bacteriophag gevoerde kuikens.

Proef A: *Bacteriophag per os. Infectie met cultuur.*

16/2; 24 kuikens van 1 dag oud werden over 2 kunstmoeders verdeeld. Beide partijen kregen de eerste 2 dagen telkens een cultuur van een Pullorum A stam door het voer, terwijl een van de partijen bovendien de eerste 3 dagen telkens 5 cc. Bacteriophag door het drinkwater kreeg. Een der met Bacteriophag gevoerde kuikens werd na 3 dagen doodgedrukt en bleek volkomen normaal te zijn en kan dus buiten beschouwing blijven. Van de Bacteriophagkuikens stierven er 4, allen eerst na 6 dagen, waarvan 2 diarree en haardjes in het hart hadden en waarbij Pullorumculturen uit de organen gekweekt konden worden. Van de contrôlekuikens stierven er 3, waarvan ook 2 met diarree, haardjes in het hart en een positieve cultuurbevinding.

Alle Bacteriophagkuikens waren op het oog gezond. Na 16 dagen werden zij allen afgemaakt, van welke er nog één een haardje in het hart bleek te hebben, en waaruit dan ook nog een Pullorumcultuur gekweekt kon worden. Van de contrôlekuikens werden 5, op het oog gezonde dieren, afgemaakt, waarvan nog één een haardje in het hart had en Pullorumbacillen in de organen bleek te hebben. Hiervan bleven er nog 4 over, die ziek waren. Deze stierven in de volgende 10 dagen en bleken allen haardjes in het hart te bezitten, hoewel er geen Pullorum meer uit te kweken was. Het onderzoek op Bacteriophag was bij de Bacterio-

phaagkuikens voortdurend positief, terwijl bij de contrôlekuikens nooit Bacteriophagaag kon aangetoond worden.

Van de Bacteriophagaagkuikens bleken dus 6 van de 11 kuikens gezond te zijn, terwijl van de contrôlekuikens er 4 van de 12 gezond waren gebleven.

Proef B: *Bacteriophagaag per os. Contact infectie.*

20/2; 10 eendagskuikens werden in elk van de 2 kunstmoeders gezet; een partij kreeg in de eerste 3 dagen 5 cc. Bacteriophagaag per dag door het drinkwater. Beide partijen werden geïnfecteerd door in elke kunstmoeder een ziek contrôlekuiken van de vorige proef te zetten. Zoodra een dezer kuikens stierf werd het vervangen door een nieuw en dit werd een week volgehouden.

Van de Bacteriophagaagkuikens stierven er 3 waarbij haardjes in het hart werden gevonden en waarbij uit de organen een Pullorumcultuur groeide.

Van de contrôles stierf er één ook aan een Pullorum-infectie.

Toen ze 14 dagen oud waren, werden alle Bacteriophagaagkuikens afgemaakt (7 stuks), welke alle volkomen normaal bleken te zijn.

Van de contrôles werden er 5 op het oog gezonde dieren, afgemaakt, waarvan er nog 2 haardjes in het hart hadden. De overige 4 werden voor de infectie bij een volgende proef gebruikt en stierven successievelijk, waarbij 2 nog haardjes in het hart vertoonden.

Bij de contrôles kon geen enkele keer Bacteriophagaag aangetoond worden.

Van de Bacteriophagaagkuikens zijn 7 van de 10 gezond gebleven.

Van de contrôles waren 3 van de 10 gezond gebleven.

Proef C: *Bacteriophagaag per os en subcutaan. Contact infectie.*

27/2. Hierbij werden 30 eendagskuikens in de kunstmoeder

geplaatst, waarvan 15 enkele druppels Bacteriophagaag per os ontvingen en tevens gekenmerkt werden door een knipje in den linkerpoot tusschen de eerste en tweede teen, terwijl de overige 15 op den rug subcutaan 0.1 cc. werden ingespoten. De 20 contrôlekuikens werden in een andere kunstmoeder gezet. De infectie in beide kunstmoeders geschiedde door een evenredig aantal zieke contrôlekuikens van de vorige proeven in de kunstmoeders te plaatsen.

Van de kuikens, die per os Bacteriophagaag ingegeven was, stierven er 2, één na 5 dagen, waaraan geen verschijnselen van Pullorum waarneembaar waren, en een na 3 weken, waarbij diarrhee op te merken viel. Van de kuikens, die met Bacteriophagaag ingespoten waren, stierf er een, waarbij uit de organen Pullorum kon gekweekt worden. Van de contrôlekuikens stierf er 1, tengevolge van diarrhee na 3 weken.

Toen de kuikens 26 dagen oud waren werden allen afgemaakt en alle met Bacteriophagaag behandelden bleken volkomen normaal te zijn, terwijl van de contrôlekuikens 9 verschijnselen van diarrhee hadden en waarvan 3 haardjes in het hart vertoonden, 1 had nog haardjes in het hart zonder verschijnselen van diarrhee echter; 10 van de afgemaakte contrôlekuikens waren dus door Pullorum aangetast.

Bij de contrôles werd geen enkele maal Bacteriophagaag aangetoond.

Van de kuikens, die met Bacteriophagaag per os waren behandeld, waren 13 van de 15 gezond gebleven, dus 87 %. Van de met Bacteriophagaag geïnjecteerde kuikens was 92 % gezond gebleven, van de contrôles waren 9 van de 20 of 45 % gezond gebleven.

Alle afgemaakte kuikens waren meer dan 3 weken oud en de dieren, die verschijnselen van Pullorum vertoonden zouden waarschijnlijk tot besmette kippen zijn opgegroeid. De anderen waren de infectie ontgroeid en zouden dus waarschijnlijk gezonde kippen hebben geleverd, temeer daar er bij kuikens boven de 3 weken zelden sterfgevallen door Pullorum meer voorkomen. Bij de vorige proeven kon dit niet

geconcludeerd worden, omdat de kuikens afgemaakt werden voor ze 3 weken oud waren. Als we dit nagaan, blijkt dat bij de met Bacteriophag behandelde kuikens er geen een aan Pullorum leed, terwijl van de 19 contrôlekuikens er 10 later besmette hennen zouden zijn geworden.

Bij deze proef schijnt het inspuiten van Bacteriophag eenig voordeel boven het ingeven ervan te bieden.

Proef D: *Bacteriophag per os en subcutaan. Infectie met cultuur.*

27/3; 12 eendagskuikens werden met 0.1 cc. Bacteriophag op den rug geïnjecteerd, 13 kregen enkele druppels Bacteriophag per os en werden met een knipje in het tusschen-teenvlies gemerkt. Deze kuikens en de 25 contrôlekuikens werden geïnfecteerd door hen den eersten dag een Pullorum B stam van agar afgeschud door het voer te geven.

Van de met Bacteriophag geïnjecteerde kuikens gingen er 2 dood, beiden tengevolge van een Pullorum infectie. Van den met Bacteriophag ingegeven kuikens stierven er ook 2 door de Pulloruminfectie. Deze 4 kuikens stierven eerst nadat ze den leeftijd van 14 dagen bereikt hadden. Van de contrôlekuikens stierven er 10 aan de Pulloruminfectie, waarbij opviel, dat de eerste 14 dagen de haardjes in het hart niet aanwezig waren, hoewel er wel Pullorumculturen uit de organen verkregen werden.

Bij de overige proeven was dit niet zoo opvallend, omdat er toen minder dooden vielen en dan nog met grootere tusschenpoozen, terwijl er hier ongeveer om den anderen dag kuikens stierven. Het eerste sterfgeval trad na 3 dagen op, toen op den 5den dag 3 enz. Zooals later blijkt, lijkt deze sterfte het meest op die bij de natuurlijke infectie van kuikens, die gezond uit het ei gekomen, in een besmette omgeving geplaatst worden.

Toen de kuikens 4 weken oud waren, werden allen afgemaakt. Bij de Bacteriophagkuikens bleek geen een met Pullorum geïnfecteerd te zijn. Van de contrôlekuikens hadden

5 van de 15 haardjes in het hart. Van de Bacteriophag-kuikens waren er 21 van de 25 gezond gebleven en 100 % van de overlevenden zou later waarschijnlijk tot Pullorumvrije kippen opgegroeid zijn. Van de contrôlekuikens waren er 10 van de 25 gezond gebleven en van de overlevenden zou waarschijnlijk 67 % Pullorumvrije kippen zijn geworden.

Bij de contrôlekuikens kon geen enkele maal Bacteriophag aangetoond worden.

Proef E: *Bacteriophag per os. Infectie door contact met kuikens uit besmette eieren.*

15/5; 95 eieren van positief agglutineerende Leghornkippen werden in de broedmachine gelegd. Hiervan werden 44 goed ontwikkelde kuikens verkregen, terwijl 6 kuikens kort na het uitkomen stierven en 9 eieren niet uitgekomen waren. Van de 6 doode kuikens had één een pericarditis, terwijl 2 reeds haarden in het hart en de lever vertoonden. Uit 3 kuikens kon Pullorum gekweekt worden en wel uit het kuiken met de pericarditis, uit een kuiken met haardjes in hart en lever en uit een kuiken, welks sectie geen bijzonderheden had opgeleverd. De eieren werden opengebroken, waarna er culturen uit aangelegd werden. Uit 5 der eieren werd een Pullorumcultuur verkregen. Van de eieren, die geen kuiken geleverd hadden, bleken dus 9 van de 15 geïnfecteerd met Pullorum, door de besmetting der moeder. De besmette eieren bevatten de Pullorumbacil in groote hoeveelheid.

22 witte besmette kuikens werden met 25 donkere gezonde kuikens in een kunstmoeder gezet, en kregen om den anderen dag tot 3 maal toe 5 cc. Bacteriophag door het drinkwater.

Ter contrôle werden 22 witte besmette en 25 donkere gezonde kuikens in een andere kunstmoeder gezet.

Van de witte, met Bacteriophag ingegeven, kuikens stierven er 13, van de witte contrôlekuikens stierven er 19; 8 van deze witte Bacteriophagkuikens hadden verschijnselen van Pullorum en alle gestorven witte contrôlekuikens vertoonden hetzij

haardjes in hart of lever, hetzij een positieve Pullorumcultuurbevinding, hetzij beide.

Van de donkere kuikens, die Bacteriophag gekregen hadden, stierven er 20; van de donkere contrôlekuikens 23; bij resp. 4 en 3 kuikens was geen Pullorum aantoonbaar.

Bij de witte contrôlekuikens was de sterfte als volgt: Den eersten dag 1, den tweeden dag 1, den derden dag 3, terwijl van de bonte contrôlekuikens er eerst op den derden dag 3 stierven.

Op een leeftijd van 27 dagen werden alle contrôlekuikens afgemaakt, van de 3 witte vertoonden er 2 verschijnselen van Pullorum, terwijl beide donkere kuikens haardjes in het hart hadden. Door een misverstand werden 4 der Bacteriophagkuikens afgemaakt. Ze vertoonden geen van allen verschijnselen van Pullorum.

De 5 witte en 5 donkere overlevende Bacteriophagkuikens werden opgefokt. Toen ze een half jaar oud waren werd hun bloed in een verdunning 1:100 op agglutinatie tegen Pullorumbacillen onderzocht. Slechts een der donkere kuikens bleek positief te reageeren en was dus geïnfecteerd.

9 van de 22 witte overlevende of afgemaakte Bacteriophagkuikens waren gezond gebleven, en slechts één van de 22 contrôles was gezond. Voor de donkere kuikens waren deze getallen resp. 4 van de 25 en geen een van de 25. Geen van de 9 witte Bacteriophagkuikens was dus opgegroeid tot een besmette kip, terwijl 2 van de 3 witte afgemaakte contrôlekuikens dit wel zou zijn geworden. Bij de donkere kuikens was één van de 5 Bacteriophagkuikens opgegroeid tot een besmette kip, wat bij beide contrôlekuikens het geval geweest zou zijn.

Proef F: *Bacteriophag per os. Infectie door voeren van besmette organen.*

1/6; 25 gezonde kuikens kregen op 3 achtereenvolgende dagen Bacteriophag door het drinkwater toegediend. Deze kuikens en 25 contrôlekuikens werden geïnfecteerd door de

ingewanden van een gestorven contrôlekuiken uit de vorige proef, waar Pullorum uit gekweekt was, door het voer te mengen.

De eerste sterfte trad na 5 dagen op. Van de Bacteriophagakuikens stierven er 19, van de contrôlekuikens 20, waarbij bij resp. 4 en 0 kuikens geen Pullorum aantoonbaar was.

Na 17 dagen werden alle overlevende kuikens afgemaakt: bij de Bacteriophagakuikens was bij geen een Pullorum aantoonbaar, van de contrôles had één verschijnselen van diarree en één had haardjes in het hart. Dus 6 van de 25 Bacteriophagakuikens waren gezond gebleven, van de contrôlekuikens waren 3 van de 25 gezond gebleven. Aangezien de kuikens hier vrij jong zijn afgemaakt, kan men geen conclusies trekken op het aantal besmette kippen, dat uit deze kuikens waarschijnlijk opgegroeid zou zijn.

Proef G: *Bacteriophag per os. Infectie door contact met kuikens uit besmette eieren.*

19/6; 53 eieren van besmette Leghornkippen werden uitgebroed. Hiervan werden 40 goed ontwikkelde kuikens verkregen. 10 der eieren waren niet uitgekomen, waarvan er 7 met Pullorum besmet waren, 3 kuikens werden dood in de kunstmoeder gevonden. Uit 2 dezer kuikens werd Pullorum gekweekt.

20 dezer kuikens en 25 gezonde donkere kuikens kregen dagelijks Bacteriophag door het drinkwater. Een gelijk aantal diende als contrôle.

Van de witte Bacteriophagakuikens stierven er 13, allen aan Pullorum, van de witte contrôles stierven er 18, waarbij ook steeds Pullorum aantoonbaar was. Van de donkere Bacteriophagakuikens stierven 16, van de contrôles 19. Bij allen was ook Pullorum aantoonbaar.

Na 25 dagen werden alle overlevende kuikens afgemaakt. Van de witte Bacteriophagakuikens bleken 3 van de 7 aan Pullorum te lijden, van de contrôles beide overlevende. Van de donkere Bacteriophagakuikens waren 3 van de 9 overlevende besmet, van de contrôles 5 van de 6. Bacteriophag kon bij de contrôlekuikens niet aangetoond worden.

Proef H: *Bacteriophag per os. Infectie door besmette kunstmoeder.*

13/7; de beide kunstmoeders der vorige proef werden niet ontsmet. 25 gezonde kuikens werden in elk dezer kunstmoeders gezet. Toen de kuikens 3 dagen oud waren, werd het zand, dat er van de vorige proef in was blijven liggen, ververscht. De kuikens, die in de kunstmoeder waren gezet, waarin bij de vorige proef, de kuikens met Bacteriophag gevoerd waren, kregen ook nu dagelijks Bacteriophag door het drinkwater.

Van de Bacteriophagkuikens stierven er 23. Bij allen waren symptomen van Pullorum aanwezig. Van de contrôles stierven er 20. Ook allen aan Pullorum. Opmerkelijk was, dat vele der kuikens alleen diarrhee vertoonden en er geen haardjes te vinden waren, noch Pullorum uit te kweken was.

Toen de kuikens 19 dagen oud waren, werden allen afgemaakt. De 2 overlevende Bacteriophagkuikens hadden beiden haardjes in het hart, van de 5 contrôlekuikens had er maar 1 haardjes in het hart. Bij de contrôlekuikens kon, toen ze 1 week oud waren, Bacteriophag aangetoond worden, terwijl de culturen zoowel uit de Bacteriophag- als uit de contrôlekuikens resistenter waren geworden.

Bij alle vorige proeven werd een bacterieëmulsie van een cultuur, die uit een der kuikens gekweekt was, door den ingegeven Bacteriophag opgehelderd en 24 uur helder gehouden. Eerst daarna trad secundaire groei in. Bij deze proef werd een bacterieëmulsie uit een der Bacteriophagkuikens gekweekt wel eenigszins opgehelderd, hoewel niet in die mate als bij bovennoemde culturen geschiedde, en na 6 uur trad reeds secundaire groei in. Een bacterieëmulsie, uit een der contrôlekuikens gekweekt, werd wel geheel helder, maar ook hier trad na 6 uur reeds secundaire groei op. Het resultaat in deze proef kan dus verklaard worden, doordat de modus van infectie niet gelijk was; bij de Bacteriophagkuikens was de bacil resistenter en waarschijnlijk virulenter dan bij de contrôles. Bovendien waren de contrôles ook besmet met Bacteriophag, zoodat dit voor beide groepen ge-

lijk bleef en geen invloed had op het verschil in sterfte. De bacterie had zich dus in den bodem genesteld en in de Bacteriophagkunstmoeder was hij resistent geworden tegen den Bacteriophag. In de contrôlekunstmoeder was hij ook eenigszins resistent. Dit is te verklaren, doordat bij het begin van deze proef, reeds direct Bacteriophag in deze kunstmoeder is gekomen, misschien doordat de nieuw ingebrachte kuikens er al mee besmet waren. Dat hij al van de vorige proef afkomstig zou zijn, is onwaarschijnlijk, omdat de afge maakte contrôlekuikens van de vorige proef met negatief resultaat op de aanwezigheid van Bacteriophag onderzocht waren.

Proef I: *Bacteriophag per os. Infectie door contact met kuikens uit besmette eieren.*

2/8; 55 eieren van besmette kippen werden in de broedmachine gelegd. Hiervan kwamen 7 kuikens uit. Van de 48 niet uitgekomen eieren bleken 14 bevrucht te zijn en 34 onbevrucht. Van de bevruchte eieren waren 2 steriel, 9 bevatten Pullorumbacillen, al of niet in reincultuur, en 3 bevatten andere bacillen dan Pullorum. Van de onbevruchte eieren waren 11 steriel, 10 bevatten Pullorumbacillen en 13 vertoonden andere bacteriën, 19 der eieren waren dus besmet, dat is 40 % van de niet uitgekomen eieren.

3 van de uitgekomen kuikens kregen samen met 25 gezonde donkere kuikens dagelijks Bacteriophag door het drinkwater. 4 besmette kuikens met 25 gezonde donkere kuikens dienden als contrôle.

Alle witte kuikens stierven, en bij alle was Pullorum aantoonbaar. Van de donkere Bacteriophagkuikens stierven er 21, allen aan Pullorum, van de contrôles 22, ook allen aan Pullorum.

Na 29 dagen werden de overlevenden afgemaakt; 2 van de 4 Bacteriophagkuikens en 2 van de 3 contrôles bleken met Pullorum besmet te zijn.

De faeces der contrôlekuikens bleken een zeer sterken Bacteriophag te bevatten, die een bacterieëmulsie van de labora-

toriumstam 5 dagen lang helder hield. Eerst daarna trad secundaire groei op. De culturen uit de eieren, de Bacteriophag- en de contrôlekuikens werden in het geheel niet aangetast, noch door den laboratoriumbacteriophag, noch door den zeer virulente Bacteriophag uit de kuikens.

De faeces der kippen, die de besmette eieren leverden, waren in het voorjaar onderzocht en bleken een zeer zwakke Bacteriophag te bevatten. Na afloop dezer proef, dus in den herfst, werden de faeces weer onderzocht; nu bleken ze een zeer sterk werkende Bacteriophag te bevatten, van iets minder virulentie echter, dan bij de kuikens was aangetroffen, hij hield een bacillenëmulsie 36 uur helder.

Daarna trad secundaire groei op. De Bacteriophag is blijkbaar eerst tezamen met de bacillen blijven voortleven, maar in den loop van den zomer verhoogden de bacillen hun resistentie dermate, dat ze niet meer door den Bacteriophag werden aangetast, hoewel deze zijn virulentie nog belangrijk verhoogd had.

Proef A. 16 Februari.

Bacteriophagaag						Contrôle					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	3	l	l	l	l	1	2	l	l	l	l
2	6	l	l	l	l	2	3	+	+	+	+
3	6	l	l	l	l	3	5	l	+	+	+
4	11	+	l	+	+	4	14	l	l	l	l
5	14	+	+	+	+	5	14	l	l	l	l
6	14	l	l	l	l	6	14	l	l	l	l
7	14	l	l	l	l	7	14	l	l	l	l
8	14	l	+	+	+	8	14	l	+	+	+
9	14	l	l	l	l	9	17	+	+	+	+
10	14	l	l	l	l	10	20	+	+	+	+
11	14	l	l	l	l	11	25	+	+	+	+
12	14	l	l	l	l	12	30	+	+	+	+

Proef B. 20 Februari.

Bacteriophagaag						Contrôle					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	4	l	+	l	+	1	13	+	+	+	+
2	4	l	+	l	+	2	13	l	l	l	l
3	6	l	+	+	+	3	13	l	l	l	l
4	13	l	l	l	l	4	13	l	l	l	l
5	13	l	l	l	l	5	13	l	+	+	+
6	13	l	l	l	l	6	13	l	+	l	l
7	13	l	l	l	l	7	18	+	l	l	l
8	13	l	l	l	l	8	18	+	l	l	l
9	13	l	l	l	l	9	18	+	+	l	l
10	13	l	l	l	l	10	19	+	+	l	+

Proef C. 27 Februari.

Bacteriophag per os						Bacteriophag geïnjicieerd						Contrôle					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Ber- ikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	5	—	—	—	—	1	6	—	—	—	—	1	23	—	—	—	—
2	25	—	—	—	—	2	26	—	—	—	—	2	26	—	—	—	—
3	26	—	—	—	—	3	26	—	—	—	—	3	26	—	—	—	—
4	26	—	—	—	—	4	26	—	—	—	—	4	26	—	—	—	—
5	26	—	—	—	—	5	26	—	—	—	—	5	26	—	—	—	—
6	26	—	—	—	—	6	26	—	—	—	—	6	26	—	—	—	—
7	26	—	—	—	—	7	26	—	—	—	—	7	26	—	—	—	—
8	26	—	—	—	—	8	26	—	—	—	—	8	26	—	—	—	—
9	26	—	—	—	—	9	26	—	—	—	—	9	26	—	—	—	—
10	26	—	—	—	—	10	26	—	—	—	—	10	26	—	—	—	—
11	26	—	—	—	—	11	26	—	—	—	—	11	26	—	—	—	—
12	26	—	—	—	—	12	26	—	—	—	—	12	26	—	—	—	—
13	26	—	—	—	—	13	26	—	—	—	—	13	26	—	—	—	—
14	26	—	—	—	—	14	26	—	—	—	—	14	26	—	—	—	—
15	26	—	—	—	—	15	26	—	—	—	—	15	26	—	—	—	—
												16	26	—	—	—	—
												17	26	—	—	—	—
												18	26	—	—	—	—
												19	26	—	—	—	—
												20	26	—	—	—	—

Proef D. 27 Maart.

1	23	—	—	—	—	1	15	—	—	—	—	1	3	—	—	—	—
2	28	—	—	—	—	2	28	—	—	—	—	2	6	—	—	—	—
3	29	—	—	—	—	3	29	—	—	—	—	3	6	—	—	—	—
4	29	—	—	—	—	4	29	—	—	—	—	4	6	—	—	—	—
5	29	—	—	—	—	5	29	—	—	—	—	5	8	—	—	—	—
6	29	—	—	—	—	6	29	—	—	—	—	6	8	—	—	—	—
7	29	—	—	—	—	7	29	—	—	—	—	7	8	—	—	—	—
8	29	—	—	—	—	8	29	—	—	—	—	8	11	—	—	—	—
9	29	—	—	—	—	9	29	—	—	—	—	9	12	—	—	—	—
10	29	—	—	—	—	10	29	—	—	—	—	10	14	—	—	—	—
11	29	—	—	—	—	11	29	—	—	—	—	11	29	—	—	—	—
12	29	—	—	—	—	12	29	—	—	—	—	12	29	—	—	—	—
13	29	—	—	—	—			—	—	—	—	13	29	—	—	—	—
												14	29	—	—	—	—
												15	29	—	—	—	—
												16	29	—	—	—	—
												17	29	—	—	—	—
												18	29	—	—	—	—
												19	29	—	—	—	—
												20	29	—	—	—	—
												21	29	—	—	—	—
												22	29	—	—	—	—
												33	29	—	—	—	—
												24	29	—	—	—	—
												25	29	—	—	—	—

Proef E. 15 Mei.

Bacteriophagaag											
Wit						Donker					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	5	—	—	—	—	1	2	—	—	—	—
2	5	+	—	—	+	2	4	—	—	+	+
3	6	—	—	—	—	3	8	+	+	+	+
4	8	—	—	—	+	4	9	—	—	—	—
5	8	+	—	+	+	5	10	—	+	—	+
6	8	—	+	+	+	6	10	—	+	—	+
7	9	—	—	—	—	7	11	—	—	—	—
8	10	+	—	—	+	8	11	—	+	+	+
9	11	+	—	—	+	9	11	—	—	+	+
10	16	—	—	—	—	10	12	+	—	+	+
11	20	+	+	—	+	11	13	—	—	+	+
12	26	—	—	—	—	12	15	—	—	+	+
13	27	+	—	—	+	13	16	—	+	+	+
14	27	—	—	—	—*	14	18	—	+	+	+
15	27	—	—	—	—*	15	20	—	+	—	+
16	27	—	—	—	—*	16	20	—	+	—	+
17	27	—	—	—	—*	17	21	—	+	—	+
18	Bloedonderzoek				—	18	21	+	+	—	+
19	"	"	"	"	—	19	23	+	+	—	+
20	"	"	"	"	—	20	23	—	—	—	—
21	"	"	"	"	—	21	Bloedonderzoek				+
22	"	"	"	"	—	22	"	"	"	"	—
						23	"	"	"	"	—
						24	"	"	"	"	—
						25	"	"	"	"	—

*) bij ongeluk gedood.

Contrôle											
1	1	—	—	+	+	1	3	+	—	+	+
2	2	—	—	+	+	2	3	+	—	+	+
3	3	+	—	+	+	3	3	—	—	+	+
4	3	+	—	+	+	4	4	+	—	+	+
5	3	+	—	+	+	5	6	+	—	+	+
6	6	+	—	+	+	6	6	+	—	+	+
7	7	+	—	+	+	7	6	—	—	—	—
8	7	+	+	+	+	8	7	+	—	+	+
9	7	+	—	+	+	9	7	+	+	+	+
10	10	+	+	+	+	10	7	—	—	—	—
11	10	—	+	+	+	11	9	+	—	+	+
12	14	+	—	+	+	12	9	—	—	+	+
13	15	+	+	+	+	13	10	+	+	—	+
14	16	+	+	+	+	14	10	—	+	+	+
15	17	+	+	+	+	15	11	+	+	+	+
16	19	—	—	+	+	16	11	—	—	+	+
17	19	—	+	+	+	17	12	+	+	+	+
18	20	+	+	+	+	18	12	+	+	+	+
19	23	+	+	—	+	19	12	+	+	+	+
20	27	—	+	—	+	20	12	—	+	+	+
21	27	—	+	—	+	21	17	—	+	+	+
22	27	—	—	—	—	22	17	—	+	+	+
						23	23	—	—	—	—
						24	27	—	+	+	+
						25	27	—	+	+	+

Proef F. 1 Juni.

Bacteriophagaag						Contrôle					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	7	+	—	+	+	1	5	+	—	+	+
2	7	+	—	+	+	2	7	+	—	+	+
3	9	+	+	+	+	3	7	+	—	+	+
4	9	+	+	+	+	4	7	+	—	+	+
5	9	+	+	+	+	5	8	+	—	+	+
6	10	—	—	+	+	6	8	+	—	+	+
7	10	—	—	—	—	7	8	+	—	+	+
8	10	+	—	—	+	8	8	+	—	+	+
9	11	—	—	+	+	9	9	+	+	+	+
10	12	+	—	—	+	10	9	+	+	+	+
11	12	+	—	—	+	11	9	+	+	+	+
12	13	—	—	—	—	12	9	+	+	+	+
13	13	+	—	—	+	13	10	+	—	+	+
14	13	+	—	—	+	14	12	+	—	—	+
15	14	—	—	+	+	15	12	+	—	+	+
16	14	+	—	+	+	16	12	+	—	—	+
17	16	+	+	+	+	17	13	+	+	+	+
18	16	—	—	—	—	18	13	+	+	+	+
19	16	—	—	—	—	19	13	+	+	+	+
20	17	—	—	—	—	20	16	+	+	+	+
21	17	—	—	—	—	21	17	+	—	—	+
22	17	—	—	—	—	22	17	—	+	—	+
23	17	—	—	—	—	23	17	—	—	—	—
24	17	—	—	—	—	24	17	—	—	—	—
25	17	—	—	—	—	25	17	—	—	—	—

Proef G. 19 Juni.

Bacteriophaag											
Wit						Donker					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	2	—	—	+	+	1	2	—	—	+	+
2	4	+	—	—	+	2	4	+	—	+	+
3	5	+	—	—	+	3	7	—	+	+	+
4	6	—	—	—	+	4	7	—	+	+	+
5	6	—	—	—	+	5	8	+	+	+	+
6	6	—	—	—	+	6	8	+	—	—	+
7	7	+	—	—	+	7	8	—	+	+	+
8	7	+	+	+	+	8	9	—	+	—	+
9	8	—	+	+	+	9	9	—	+	—	+
10	9	+	+	+	+	10	11	—	+	+	+
11	12	+	+	—	+	11	12	+	+	+	+
12	14	+	—	+	+	12	12	+	+	—	+
13	16	+	+	—	+	13	12	—	+	+	+
14	24	—	—	—	—	14	14	+	+	—	+
15	24	—	—	—	—	15	15	+	+	—	+
16	24	—	+	—	+	16	20	—	+	—	+
17	24	—	—	—	—	17	24	—	—	—	—
18	24	—	—	—	—	18	24	—	—	—	—
19	24	—	+	—	+	19	24	—	—	—	—
20	24	—	+	—	+	20	24	—	—	—	—
						21	24	—	+	—	+
						22	24	—	+	—	+
						23	24	—	—	—	—
						24	24	—	+	—	+
						25	24	—	—	—	—

Contrôle

1	2	—	—	+	+	1	2	—	—	+	+
2	2	+	—	—	+	2	2	—	—	+	+
3	2	+	—	—	+	3	3	+	—	+	+
4	4	+	—	+	+	4	3	+	—	+	+
5	5	—	—	+	+	5	6	+	—	+	+
6	5	+	—	+	+	6	6	—	—	+	+
7	6	+	—	+	+	7	8	+	+	+	+
8	6	+	—	+	+	8	8	+	+	+	+
9	6	—	—	+	+	9	8	—	+	+	+
10	7	+	+	+	+	10	10	+	+	+	+
11	7	+	+	+	+	11	10	—	+	+	+
12	7	—	+	+	+	12	11	+	+	—	+
13	8	+	+	+	+	13	12	+	+	+	+
14	10	+	+	+	+	14	12	+	+	—	+
15	12	+	+	—	+	15	12	—	+	—	+
16	16	+	+	—	+	16	12	—	+	+	+
17	16	+	—	+	+	17	14	—	+	+	+
18	20	+	+	—	+	18	16	+	+	+	+
19	24	—	+	—	+	19	16	+	+	—	+
20	24	—	+	—	+	20	24	—	+	—	+
						21	24	—	+	—	+
						22	24	—	+	—	+
						23	24	—	+	—	+
						24	24	—	+	—	+
						25	24	—	—	—	—

Proef H. 13 Juli.

Bacteriophag						Contrôle					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	6	+		+	+	1	6	+			+
2	6	+	l		+	2	6	+	l		+
3	6	+	l	l	+	3	7	+	l	+	+
4	6	l	l	+	+	4	7	+	l	+	+
5	6	l	l	+	+	5	7	+	+	+	+
6	7	+	l	+	+	6	7	+	l	+	+
7	7	+	l	l	+	7	7	+	l	+	+
8	7	+	l	+	+	8	7	+	l	+	+
9	7	+	l	+	+	9	7	l	+	+	+
10	7	+	l	+	+	10	7	l	+	+	+
11	7	l	l	+	+	11	7	l	l	+	+
12	7	l	l	+	+	12	8	+	l	+	+
13	8	+	l	l	+	13	9	+	l	+	+
14	8	l	+	+	+	14	9	l	l	+	+
15	8	l	l	+	+	15	15	+	+	l	+
16	9	+	l	+	+	16	16	+	+	l	+
17	9	+	l	+	+	17	17	+	+	l	+
18	9	+	l	+	+	18	17	+	+	l	+
19	9	+	l	l	+	19	17	+	+	l	+
20	10	+	l	l	+	20	18	+	+	l	+
21	10	+	l	l	+	21	19	l	+	l	+
22	11	+	+	l	+	22	19	l	l	l	}
23	12	+	+	l	+	23	19	l	l	l	
24	19	+	+	l	+	24	19	l	l	l	
25	19	l	+	l	+	24	19	l	l	l	

Proef I. 2 Augustus.

Bacteriophraag											
Wit						Donker					
No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet	No.	Bereikte leef- tijd in dagen	Diarrhee	Sectie	Cultuur	Besmet
1	5	+	—	+	+	1	8	+	—	+	+
2	6	+	—	+	+	2	9	+	—	+	+
3	9	+	—	+	+	3	9	+	—	+	+
						4	9	+	—	+	+
						5	10	+	—	+	+
						6	10	+	—	+	+
						7	10	+	—	—	+
						8	11	+	—	—	+
						9	11	+	—	—	+
						10	11	+	—	—	+
						11	12	+	—	—	+
						12	12	+	—	—	+
						13	13	+	—	—	+
						14	14	+	—	—	+
						15	15	+	—	—	+
						16	16	+	—	—	+
						17	21	—	—	—	+
						18	22	+	—	—	+
						19	22	+	—	—	+
						20	23	—	—	—	+
						21	23	—	—	—	+
						22	29	—	—	—	+
						23	29	—	—	—	+
						24	29	—	—	—	+
						25	29	—	—	—	+

Contrôle											
1	5	+	—	+	+	1	3	+	—	—	+
2	7	+	—	+	+	2	6	+	—	—	+
3	7	+	—	+	+	3	9	+	—	—	+
4	16	+	—	+	+	4	10	+	—	—	+
						5	12	+	—	—	+
						6	13	+	—	—	+
						7	14	+	—	—	+
						8	14	+	—	—	+
						9	14	+	—	—	+
						10	15	+	—	—	+
						11	15	+	—	—	+
						12	15	+	—	—	+
						13	16	—	—	—	+
						14	16	—	—	—	+
						15	16	+	—	—	+
						16	18	+	—	—	+
						17	19	—	—	—	+
						18	20	+	—	—	+
						19	23	+	—	—	+
						20	24	+	—	—	+
						21	24	—	—	—	+
						22	25	+	—	—	+
						23	29	+	—	—	+
						24	29	+	—	—	+
						25	29	—	—	—	+

Resultaten in de praktijk

Uit de toepassing van den Bacteriophagaag in de praktijk zijn weinig conclusies te trekken, omdat men er geen contrôles kan nemen. Slechts in 2 gevallen zijn een klein aantal kuikens bij wijze van contrôle apart gezet en niet behandeld. De toediening geschiedde per os door het drinkwater, waarbij 3 maal op achtereenvolgende dagen of met een dag tusschenruimte Bacteriophagaag werd gegeven, en wel 10 cc. voor elke 100 kuikens.

Er is alleen genoteerd hoeveel kuikens er stierven voor en na het ingeven, of als de kuikens direct na de geboorte werden ingegeven, hoeveel er van een vorig broedsel stierven en hoeveel er van het betreffende broedsel stierven. De sterftecijfers zijn opgegeven tot een leeftijd van 4 weken. Na dien leeftijd is het getal der kuikens, dat aan Pullorum sterft, gering. In alle gevallen werden de diagnose Pullorum bacteriologisch vastgesteld, tenzij er necrotische haardjes aanwezig waren.

A. B. Ermelo: Hier waren van een vorig broedsel van 150 kuikens 95 % gestorven. Een ander broedsel had, hoewel ze op een andere plaats waren opgefokt, een even groote sterfte gegeven. Waarschijnlijk waren hier dus de kippen besmet. Bij navraag bleken van tijd tot tijd kippen diarrhee te krijgen en te sterven.

9 Maart: van een broedsel van 108 kuikens waren er toen ze 1 dagen oud waren, nog 45 over. Op dit tijdstip werd Bacteriophagaag ingegeven. Daarna stierven nog 16 kuikens.

15 Maart: 142 kuikens kregen direct na de geboorte Bacteriophag. Hiervan stierven er 64.

16 Maart: 610 kuikens werden op dezelfde manier behandeld als de vorige. Hiervan stierven 420. Van dit broedsel waren 30 kuikens apart gezet en niet met Bacteriophag behandeld, waarvan er 26 stierven. Hier was dus weinig resultaat te zien. Deze kuikens waren uit eieren afkomstig van 2-jarige hennen. Alle andere waren uit de eieren van 1-jarige hennen.

19 Maart: 244 kuikens kregen dadelijk na de geboorte Bacteriophag. Hiervan stierven er 147. 44 kuikens van hetzelfde broedsel, die niet behandeld waren stierven allen.

v. N., Ermeloo: Van hetzelfde broedsel, als boven onder 9 Maart vermeld wordt, waren 400 kuikens afgeleverd. Hiervan waren er, toen ze 8 dagen na de geboorte met Bacteriophag waren behandeld 102 gestorven. Daarna stierven er nog 50.

J. B., Barneveld: 14 Maart. Van 300 kuikens waren er, toen ze op een leeftijd van 12 dagen Bacteriophag kregen, 70 gestorven. In den loop van de volgende 18 dagen stierven er nog 27.

15 Maart: een volgend broedsel van 320 kuikens kreeg direct na de geboorte Bacteriophag. Hiervan stierven er 40.

R., Barneveld: 8 April. 130 kuikens waren er, toen ze 1 week oud waren, van de 200 over. Nadat Bacteriophag gegeven was stierven er nog 28.

19 April. Een volgend broedsel van 150 kuikens werd direct na de geboorte met Bacteriophag behandeld. Hiervan stierven er 26.

L., de Bilt: 6 Mei. Van 300 kuikens waren er op een leeftijd van 5 dagen 12 gestorven. Toen werd Bacteriophag gegeven. Er stierven nog 63 na het ingeven.

L., Groenekan: 8 Mei. Van een toom van 100 kuikens waren er toen ze 10 dagen oud waren 22 gestorven. Na het ingeven met Bacteriophagaag stierven er nog 16.

P., de Bilt: 12 Mei. Van 48 kuikens waren er na 12 dagen nog 30 over. Hiervan vertoonden 14 duidelijke ziekteverschijnselen: Ze zaten in elkaar gedoken en verscheidene hadden diarrhee. 's Middags werd Bacteriophagaag ingegeven en den volgende dag waren alle zieken veel beter. Verder is er geen een meer gestorven.

v. M., Barneveld: 24 Mei. Van 600 kuikens, welke voor 3 weken geboren waren, stierven er 200. Op dit tijdstip werd Bacteriophagaag ingegeven, waarna er nog 21 kuikens stierven.

L., Barneveld: 2 Juni. Van 450 kuikens waren er na 1 week 15 gestorven. Nadat de Bacteriophagaag ingegeven was stierven er nog 151.

v. B., Hoevelaken: 5 Juni. Van 240 kuikens waren op een leeftijd van 14 dagen 20 gestorven. Toen werd Bacteriophagaag gegeven. Den eersten dag na de toediening stierven er nog 30, daarna tot een leeftijd van 4 weken nog 8.

R., Barneveld: 16 Juni. 32 kuikens van 1 week oud waren van 160 kuikens overgebleven. Nadat ze met Bacteriophagaag behandeld waren stierven er nog 23.

Beschouwingen en conclusies

In het kort wilde ik hier nog enkele opmerkingen over het verloop der ziekte en haar symptomen plaatsen.

Tusschen de kuikens, die van uit het ei geïnfecteerd zijn en die, welke eerst daarna geïnfecteerd worden, bestaat een vrij duidelijk verschil. De kuikens, die uit een besmet broedsel geboren worden, komen vaak reeds ter wereld met verschijnselen der ziekte; zij vertoonen vaak al diarrhee; in de lavan de broedmachine vindt men dunne groenachtige faeces. Bij enkele exemplaren, die kort na het uitkomen stierven, vond ik zelfs reeds een pericarditis, waarbij het pericard door bindweefsel om het hart verkleefd zat (proef E). Van deze dieren vallen er meestal reeds in de eerste 3 dagen af, en in de eerste week een wisselend percentage, dat echter meestal grooter is dan bij eerst na de geboorte geïnfecteerde dieren. Deze laatsten sterven zelden voor ze 3 dagen oud zijn, en dan nog meestal door andere oorzaken, daar men zelden de bacil er uit kweeken kan, of andere symptomen van de ziekte ziet. Dit blijkt duidelijk, als men de contrôlekuikens van de proeven C, D, F en H en de donkere contrôlekuikens van de proeven E en G vergelijkt met de witte contrôlekuikens van de proeven E en G. Zijn de dieren ouder dan een week, dan vermindert vaak het aantal sterfgevallen bij de uit het ei geïnfecteerden, terwijl bij de na de geboorte geïnfecteerde kuikens de sterfte dan eigenlijk pas goed inzet. Dit laatste is vooral duidelijk bij de proeven F en H bij de contrôlekuikens en bij de proeven E, G en I bij de donkere contrôlekuikens, als men deze vergelijkt met het verloop der sterfte bij de witte contrôlekuikens van de proeven E en G.

Hebben de dieren een leeftijd van 7—10 dagen bereikt, dan treden de eerste Pullorumhaardjes op, zooals men vrijwel bij alle proeven zien kan. Bij de kuikens uit besmette broedsels ziet men ze iets eerder; dit verschilt echter slechts enkele dagen en daar de tijd van het verschijnen der haardjes ook niet geheel constant is, kan dit niet als verschilpunt dienen bij het uitmaken of de dieren al dan niet uit het ei besmet zijn. De kuikens, die zoo zwaar geïnfecteerd zijn, dat ze al eerder haardjes in het hart zouden vertoonen, schijnen allen te sterven in het ei of kort na het uitkomen, daar ik geen enkel kuiken zag, dat beneden den leeftijd van 5 dagen haardjes vertoonde, maar wel in de broedmachine gestorven kuikens met haardjes vond. Over het algemeen kan men zeggen, dat de haardjes verschijnen, tegen dat de eidooier verschrompeld is. Bij zieke kuikens wordt de eidooier echter vaak slecht geresorbeerd, zoodat men in de kuikens van 14 dagen vaak eidooiers vindt, die nog bijna even groot zijn als bij de geboorte. Ze zijn dan vaak dunvloeibaar van consistentie, terwijl er klonten in drijven.

In de eerste week der ziekte ziet men veel kuikens met diarrhee, wat later minder vaak voorkomt, maar dan ziet men juist de haardjes tevoorschijn komen. (Vergelijk Contrôlekuikens proef D, donkere contrôlekuikens proef E en G, witte contrôlekuikens proef E). Op lateren leeftijd wordt het ook moeilijker om de bacil uit het kuiken te kweeken, vooral als de eidooier geresorbeerd is. Zoolang deze nog aanwezig is, kan men, als het incubatiestadium voorbij is, uit een gestorven kuiken van een geïnfecteerd toom vrij zeker de bacil kweeken.

De Pullorumhaardjes vond ik voornamelijk in het hart, in enkele gevallen in de lever, terwijl ze sporadisch in de longen voorkwamen. In andere organen heb ik ze nooit waargenomen.

In de literatuur staat niets over de microscopische bouw dezer haardjes vermeld, daarom werd deze in eenige coupes onderzocht.

In coupes van de lever ziet men, dat de haardjes niet zoo

scherp omschreven zijn als men macroscopisch zou vermoeden. Jonge haardjes hebben een sterk alteratief karakter. Men ziet onregelmatige massa's van vervallen leverepitheel, waarin enkele kernen van lever- en endotheelcellen, leucocyten en resten van kernen. De leverstructuur is volkomen uit deze haardjes verdwenen.

In oudere haardjes vindt men tusschen deze celdetritis vele exsudaatcellen dicht op een liggen. Tusschen de haardjes zelf liggen ook nog exsudaatcellen, zoodat men als de haardjes dicht bij elkaar liggen het beeld van een diffuse, exsudatieve hepatitis krijgt,

De haardjes in het hart blijken ook lang zoo scherp niet omschreven, als men macroscopisch wel zou vermoeden. Zij liggen sub-epicardiaal en vertoonen het beeld van een chroomyocarditis, waarbij het spierweefsel vervalt en vervangen wordt door het woekerende intramusculaire bindweefsel. Vaak is de structuur van de hartspier niet meer te herkennen, doordat het spierweefsel vervangen is door een massa exsudaatcellen, waartusschen bindweefselfibrillen, gedegenereerde spiercellen en kernen.

Gaan wij nu de resultaten na, die door toediening van den Bacteriophag verkregen werden, dan valt op, dat, zoowel bij de laboratoriumproeven als bij de proeven in de practijk, er in het voorjaar eenige werking was, wat later in het jaar niet meer het geval was. Op de proeven in de practijk zijn niet veel conclusies te trekken, daar de verschillende omstandigheden niet nauwkeurig genoeg nagegaan en vergeleken konden worden.

Proef A en B zijn betrekkelijk kleine proeven en kunnen het best als oriëntatieproeven beschouwd worden. Zij laten echter reeds zien, wat bij proef C duidelijk uitkomt, dat de Bacteriophag het aantal sterfgevallen niet in sterke mate vermindert; hij vermindert echter wel het aantal besmette kuikens van de nog overlevende. Tevens blijkt bij de proeven A en B, dat de sterfte bij de contrôlekuikens later optreedt dan bij bacteriophagkuikens. De ziekte wordt dus door den

Bacteriophaat meer acuut gemaakt en daardoor wordt dan tevens ten deele verklaard, dat er minder besmette dieren overblijven, want een groote bron van besmetting is hiermee opgeruimd en de Bacteriophaat behoedt de nog niet besmette kuikens, als deze een zekere leeftijd, (waarschijnlijk 3 dagen) bereikt hebben, voor een verdere infectie.

Bij proef C is de besmetting blijkens het geringe aantal sterfgevallen, niet erg groot geweest en hier komt het nog duidelijker uit, dat de Bacteriophaat de kuikens, nadat deze 3 dagen oud zijn geworden, voor een besmetting behoedt en daardoor voorkomt dat er zich bij de overlevende chronisch zieken bevinden. Zooals later blijkt uit proef E zullen deze chronisch zieken later opgroeien tot besmette hennen, waardoor deze chronisch zieke kuikens juist zeer gevaarlijk worden. De kuikens, welke beneden den leeftijd van 3 dagen geïnfecteerd worden, zijn nog te zwak om weerstand te bieden en sterven acuut. Dit blijkt ook uit de literatuur, waar men algemeen opgegeven vindt, dat de infectie van kuikens alleen beneden den leeftijd van 3 dagen plaats vindt. Dit moet men lezen, dat in dat geval de kuikens acuut sterven; de later geïnfecteerde sterven niet of eerst na langeren tijd en worden chronisch ziek. Deze zijn het juist die de cyclus hen-ei-kuikenen tot stand brengen.

In proef D hebben wij een soortgelijk resultaat als in de vorige proef, maar hier schijnt de Bacteriophaat bovendien nog een groot aantal sterfgevallen te voorkomen.

In beide laatste genoemde proeven is de Bacteriophaat op verschillende manieren geëppliceerd, maar dit leverde geen verschil op, zoodat de manier, waarop men den Bacteriophaat toedient, van geen belang is. Bij de overige proeven werd dan ook de Bacteriophaat op de gemakkelijkste manier en wel door het drinkwater toegediend.

Bij alle vorige proeven was een kunstmatige infectie toegepast. Bij proef E werd de natuurlijke infectie beproefd. Hier was ook eenig verschil in sterfte tusschen de Bacteriophaat- en de contrôlekuikens. De Bacteriophaatkuikens, welke

niet door de infectie gestorven waren, werden opgefokt, en hierbij werd bij bloedonderzoek relatief een gelijk aantal besmette kippen, als bij de vorige proeven besmette overlevende kuikens gevonden. Dit steunt de veronderstelling, dat de besmette overlevende kuikens chronisch ziek zijn en later besmette hennen worden, terwijl de overlevende gezonde kuikens op zullen groeien tot Pullorumvrije hennen.

Proef F werd weer genomen met een kunstmatige infectie en geeft een zeer groote sterfte aan, ondanks de niet bijzonder zware besmetting. Toch werden ook hierbij geen der overlevende Bacteriophagakuikens besmette dieren aange troffen, wat bij de contrôles wel het geval was.

Proef G was in opzet gelijk aan proef E en ook de resultaten kwamen er mee overeen, alleen vielen ze hier wat ongunstiger uit.

Bij deze 2 laatste proeven ziet men reeds de voorteekenen, van wat zich in de volgende 2 proeven in sterke mate zal openbaren, namelijk het resistent worden van de bacteriën, waardoor deze veel virulenter worden.

Bij proef H zien we bovendien Bacteriophag bij de contrôlekuikens spontaan optreden, in zoo sterke mate zelfs, dat deze Bacteriophag in vitro sterker werkte als de ingegeven Bacteriophag. Dit zelfde zien wij in vivo, want de verkregen resultaten zijn als het ware omgekeerd: bij de contrôles ziet men weinig besmette overlevende kuikens terwijl bij de bacteriophagakuikens alle overlevende besmet waren. De bacillen waren hier reeds bezig resistent te worden, maar de Bacteriophag behield nog steeds de overhand.

In proef I waren de bacillen geheel resistent en tevens zeer virulent geworden, waardoor de Bacteriophag uitgeschakeld werd. Hier was ondanks de geringe besmetting een groote sterfte (maar enkele besmette kuikens waren bij vele gezonde geplaatst), terwijl er geen verschil tusschen de Bacteriophag en de contrôlekuikens viel waar te nemen.

Nu werd bij de kippen, welke de besmette eieren geleverd hadden, een Bacteriophag van groote virulentie gevonden,

terwijl in het voorjaar slechts een zwakke Bacteriophagaag aanwezig was geweest, deze Bacteriophagaag had dus in den loop van den zomer zijn virulentie voor de bacillen verhoogd, maar dit voordeel werd geheel opgeheven, doordat de bacillen tenslotte absoluut resistent werden.

In deze richting wijzen ook de resultaten, die in het voorjaar bij A/B. te Ermelo gevonden werden: daar was bij de eieren van 2-jarige hennen in het geheel geen succes met den Bacteriophagaag een vermindering van de sterfte van ongeveer 20 % optrad. Dit is te verklaren door aan te nemen, dat de bacil in de 2-jarige hennen in den loop van den vorigen zomer resistent was geworden, waarvoor de bacillen in de 1-jarige hennen nog geen gelegenheid hadden gehad.

De overige proeven in de practijk bevestigen ook de laboratoriumproeven in zooverre, dat de Bacteriophagaag in het voorjaar eenige resultaten gaf, terwijl de resultaten later in het jaar steeds slechter werden, wat met de conclusies, die uit de laboratoriumproeven getrokken konden worden, namelijk dat de bacil in den loop van den zomer resistent wordt, verklaard kan worden.

De resultaten van proef A en B, waarbij gevonden werd, dat de Bacteriophagaag de ziekte meer acuut maakt en de geïnfecteerde kuikens er sneller door sterven, zijn in de daaropvolgende proeven niet bevestigd geworden.

Zooals mij bij monde van enkele fokkers werd medegedeeld, hadden zij de beste resultaten, indien zij vroeg in het voorjaar broeden, in de maanden Februari, Maart en April. Dit kan men ten deele verklaren uit de door mij verkregen resultaten.

Resumeerende komen wij dus tot de volgende conclusies:

1. Indien de bacil niet resistent is, vermindert de Bacteriophagaag de sterfte bij de kuikens met 5—20 %.
2. Indien de bacil niet resistent is, wordt het aantal besmette dieren bij de overlevende kuikens sterk verminderd, vaak blijven alleen gezonde kuikens over.

3. Indien de bacil resistent is geworden, is hij tevens veel virulenter geworden en dan heeft de Bacteriophag geen invloed meer op het verloop der ziekte.
 4. In de loop van den zomer worden de meeste Pullorum-stammen resistent en daarmee virulenter, waarom het aanbeveling verdient vroeg in het voorjaar te broeden.
-

B. Vlekziekte van de varkens

Beschrijving der ziekte

De vlekziekte is in acute gevallen een septicaemie, veroorzaakt door de bac. *Erysipelatis suis*. *Pasteur* bestudeerde deze ziekte het eerst en vervaardigde een entstof er tegen, hoewel de bacil eerst later door *Loeffler* goed beschreven werd. De ziekte komt in heel Europa voor, vooral in de zomermaanden. In den winter blijft zij tot enkele sporadische gevallen beperkt. De verfijnde rassen schijnen meer gevoelig er voor te zijn dan de grovere landrassen.

De bacil is een fijn, onbewegelijk, Gram-positief staafje, dat zich vermenigvuldigt door overlangsche deeling. De steekcultuur in gelatine geeft een typische lampwisscherfiguur. Door een wasachtig omhulsel is de bacil vrij resistent tegen schadelijke invloeden als indroging, zonlicht, rotting, pekelen en rooken. Desinfectantia en hooge temperaturen dooden hem echter in korten tijd.

De bacil is pathogeen voor vele eieren; muis en duif worden gedood door zeer minimale hoeveelheden, konijnen krijgen een lokaal ontstekingsproces, dat in enkele gevallen in een septicaemie overgaat, die tot den dood voert. *Cavia's* zijn daarentegen ongevoelig voor vlekziekte. Bij alle gevogelte kan men de experimenteele infectie doen aanslaan; bij dezen ziet men soms ook een natuurlijke infectie. Duiven, die met gedoode cultuur worden ingespoten, gaan cachectisch ten gronde. Dit gebeurt waarschijnlijk door de endotoxinen van de bacil; ectotoxinen zijn nog nooit aangetoond.

Biggen, die jonger dan 3 maand zijn, zijn zeer moeilijk te infecteeren, zware varkens met veel vetafzetting gemakkelijker. Hoewel de natuurlijke infectie meestal per os geschiedt, gelukt het experimenteel met culturen uiterst zelden op deze wijze vlekziekte op te wekken, wel indien men cultuur subcitaan injecteert of in scarificaties inwrijft. De smetstof zit voornamelijk in de faeces, die dan ook zeer tot de verspreiding bij dragen. De smetstof wordt per os opgenomen, maar behoeft niet altijd ziekte te veroorzaken, aangezien niet alle varkens van een koppel, dat aan de besmetting bloot wordt gesteld, ziek worden; er is dus een zekere wisselende individueele gevoeligheid. In streken, waar vlekziekte voorkomt, vindt men in een betrekkelijk groot aantal gevallen vlekziekte bacillen in de tonsillen van volkomen gezonde varkens. Bestaat een zekere praedispositie, dan kunnen de vlekziektebacillen door het intacte darmslijmvlies of door verwondingen daarvan bijvoorbeeld veroorzaakt door ingewandswormen, binnen dringen en in de bloedsbaan geraken. In het bloed vermeerderen de bacillen zich snel. Nu kunnen zij, in groot aantal samengekleefd, in de fijnere vaten blijven steken, waar zij door hun stofwisselingsproducten roodheid en transsudatie veroorzaken veroorzaken. In de huid worden op deze manier de vlekken veroorzaakt. Zij blijven waarschijnlijk gemakkelijker aan de vaatwand kleven, als zij door leucocyten opgenomen zijn, die zich dan aan de intima hechten. Indien zij in chronische gevallen aan de kleppen van het hart blijven kleven, veroorzaken zij daar een endocarditis.

Het incubatie tijdperk is meest 3—5 dagen, in sommige gevallen is echter een incubatie van één dag waargenomen. Daarna treden de eerste symptomen voor den dag: de dieren zijn lusteloos, liggen veel en hebben geen eetlust. In het begin ziet men vaak obstipatie, die later gevolgd wordt door diarree; de temperatuur is zeer hoog. Soms vertoonen zich na 1 of 2 dagen vlekken, die meer of minder groot zijn, van een donkerroode tot paarse kleur en die iets boven de oppervlakte verheven zijn. In enkele gevallen treedt spontane

genezing op, na 2—12 dagen. Soms schijnt het dier genezen te zijn, maar sterft het toch nog na 6—12 weken tengevolge van een endocarditis. In de meeste gevallen sterft het dier na 3—4 dagen ziek geweest te zijn.

De behandeling bestaat voornamelijk uit injecties met immuunserum, wat in 88 % der gevallen genezing geeft.

Prophylactisch entte *Pasteur* reeds met levende culturen, welke in meerdere of mindere mate verzwakt waren door konijnenpassages. Deze methode gaf wel een goede immuniteit, maar het nadeel was, dat vaak entvlekziekte optrad, vooral bij de meer verfijnde rassen, en dat latente ziekteprocessen vaak opgewekt werden.

De simultaanenting van *Lorenz* en *Leclainche* omging deze gevaren, terwijl de immuniteit toch voldoende was, vooral indien voor de tweede maal cultuur werd geïnjecteerd. *Emmerich* zag het eerst de beschuttende werking van immuunserum, dat hij vervaardigde bij konijnen. *Lorenz* paste de simultaanenting met immuunserum van varkens toe, terwijl *Leclainche* het immuunserum bij paarden bereidde. Het voordeel dezer methode is, dat na de enting een passieve immuniteit optreedt, welke 7—15 dagen duurt. Andere entmethoden zijn ondeugdelijk gebleken, daar steeds bacterie-extracten gebruikt werden, welke geen immuniteit geven, zooals *Burkart* bewezen heeft, evenmin als gedooide culturen.

Rüpel en *Ornstein* werkten een enting uit, waarbij een suspensie van bacillen bij een bepaalden zuurgraad en door een electrischen stroom van bepaalde sterkte opgelost werd. Bij de daardoor vrijgekomen eiwitten konden zij twee soorten onderscheiden: lyophobe eiwitten, die niet opgelost bleven, maar neersloegen en lyophyle eiwitten, die in oplossing bleven. In de lyophobe eiwitten, zou juist een groote immuniseerende kracht schuilen en hiervan bereidden zij hun electrisch-osmotisch vaccin.

Bij een groote serie proeven, welke zij op muizen namen, bleek hun, dat dit vaccin beter actief immuniseerde dan serum en cultuur of cultuur alleen. Muizen, welke op een van beide

laatste manieren geïmmuniseerd waren, bleken zeer vaak overgevoelig te zijn geworden, wat bij dieren, die met hun vaccin geïmmuniseerd waren, niet het geval was. Zij verkiezen bovendien een kiemvrije entstof boven een levende, omdat men bij een levende entstof, met een wisselende virulentie, niet met zekerheid kan immuniseeren. Daarenboven heeft men bij de levende entstof nog het gevaar, dat de ziekte er door verspreid wordt.

De resultaten, welke zij bij muizen bereikten, zijn nog niet voor varkens bevestigd.

Versterking van den Vlekziektebacteriophaga tegen andere stammen

Van *Prof. Miesznier* te Hannover ontvingen wij een vlekziektebacteriophagastam, welke werkzaam was op een bijbehorende stam. Deze stam werd voortdurend helder gehouden, secundaire groei trad niet op. De Bacteriophaga werd geënt in een buisje bouillon, waarbij 2 druppels van een agarcultuur, die met 20 druppels bouillon was afgespoeld, werden gevoegd. Deze wijze van enten is geheel zooals door *d' Hérelle* wordt aangegeven; maar hiermee worden zoo weinig bacillen in de bouillon geënt, dat in de buis geen zichtbare troebeling ontstaat. In de op deze manier geënte contrôlecultuurbuis vertoonde zich na 4—6 uur de wolkige vlekziekte troebeling, terwijl de buizen, waarbij Bacteriophaga was gevoegd helder bleven. In deze laatste buizen trad geen secundaire groei op, zij bleven zelfs een maand helder. In een microscopisch preparaat van een druppel uit een dezer buizen bleken enkele vlekziekte-bacillen te zitten, die echter geen normale kleine slanke rechte staafjes, maar lang en gekromd waren. Werd uit deze buizen geënt in versche bouillon, dan trad geen groei meer op. De op deze manier bereide Bacteriophaga hield andere vlekziekte stammen niet helder.

Om den Bacteriophaga sterker geconcentreerd te krijgen, werd van de methode van *d' Hérelle* afgeweken, doordat geen agarcultuuraafspoelsel werd gebruikt om de buisjes te enten, daar dit geen voldoende aantal bacteriën leverde om in de daarmee geënte bouillon een zichtbare troebeling op te wekken. De buisjes werden nu geënt met de hoeveelheid

van circa $\frac{1}{3}$ buisje 48 uur oude bouilloncultuur. Hierdoor werdeen lichte troebeling verkregen, die door den Bacteriophraag werd opgehelderd. Nu werd de concentratie van den op deze manier bereidden Bacteriophraag bepaald naast die van den op de oude manier bereidden, door den Bacteriophraag telkens 10 maal te verdunnen en 1 cc. van elke verdunning bij een met vlekziekte geënt buisje te voegen. De volgens de oude manier bereide bacteriophraag werkte nog bij een verdunning $1 : 10^4$, in de hoogere verdunningen was hij onwerkzaam; voor den volgens de nieuwe manier bereidden Bacteriophraag was deze grens een verdunning $1 : 10^{10}$.

Toen de werking van dezen geconcentreerden Bacteriophraag op andere vlekziekestammen onderzocht werd, bleek hij reeds in de eerste passage een met vlekziektebouillon tot licht troebel geënte buis op te helderen en helder te houden. Tot nu toe zijn 16 stammen van verschillende herkomst onderzocht: slechts een stam, die van de Rijksseruminrichting ontvangen werd, bleek resistent te zijn.

Behalve bij eenige proeven, waarbij het anders vermeld wordt, is bij alle volgende proeven gebruik gemaakt, van dezen geconcentreerden Bacteriophraag. Bovendien werd steeds een polyvalente Bacteriophraag gebruikt, dat wil zeggen een mengsel van Bacteriophagen, die verschillende vlekziekestammen hadden opgelost. Deze werd als volgt bereid: een aantal kolven, elk gevuld met 50 cc. bouillon, werden elk met 2 buisjes of 20 cc. van een 48 uur oude bouilloncultuur van een der oplosbare stammen geënt, waarna er 40 druppels Bacteriophraag werden bijgevoegd. Elke oplosbare stam werd op deze manier in 1 of meer kolven geënt. Als de kolven helder waren geworden na 8—10 uur, werd alle bouillon gemengd en gefiltreerd, zoodat in het filtraat de opgeloste bacillen van verschillende vlekziekestammen en de daartegen werkzame Bacteriophraag met zijn producten zat.

Experimenten bij kleine proefdieren

Proeven met muizen waren met de weinig geconcentreerde Bacteriophaga reeds genomen door *Mieszner* en *Baars* en later door *Kramer*, maar allen zonder enig resultaat. Voornamelijk werd door hen getracht muizen te immuniseeren met Bacteriophaga, die in verschillende hoeveelheden werd ingespoten, en na verschillend langen tijd werd dan door een cultuurinjectie de immuniteit beproefd. De voorbehandelde muizen bleken steeds even snel te sterven als de contrôles. Ook werd beproefd of de Bacteriophaga tegen een gelijktijdige infectie beschutte, of tegen een infectie na een verschillend tijdsverloop na de Bacteriophagainjectie. Hierbij werd eveneens geen resultaat verkregen, zoodat men tot de conclusie kwam, dat de vlekziektebacteriophaga geen immuniseerende, noch een beschuttende werking heeft. Hiertegen kan men inbrengen, dat deze conclusies alleen gelden voor muizen, maar dat men er geen parallelconclusie voor varkens uit mag trekken, daar dezelfde proeven bij varkens heel anders uit kunnen vallen. Daarom werd bij mijn onderzoekingen het zwaartepunt op de experimenten met varkens gelegd en slechts enkele proeven van de vorige onderzoekers herhaald met de op de nieuwe manier bereidde Bacteriophaga om te zien of deze soms nog andere uitkomsten gaf.

Eerst werd getracht een konijn 504 te immuniseeren, door het alleen met Bacteriophaga in te spuiten. Daartoe werd het dier intraveneus ingespoten met 0.5 cc. van een Bacteriophaga, die weinig geconcentreerd was, en welke bereid was met de vlekziekestam, die van *Prof. Mieszner* met de Bacteriophaga ontvangen was. Deze Bacteriophaga werd 1 week na het filtreren ingespoten. Als contrôle diende een

even oud en even zwaar konijn 505, dat intraveneus ingespoten werd met 0.3 cc. van een mengsel van 48 uur oude bouillonculturen van verschillende stammen en met serum.

Na 5 dagen werd het eerste konijn 504 nogmaals intraveneus ingespoten met 0.5 cc. van denzelfden Bacteriophagaag, terwijl het contrôlekonijn 505 ingespoten werd met 0.3 cc. van een soortgelijk cultuurmengsel als de eerste maal, echter zonder serum.

34 dagen na de laatste enting werd van beide dieren bloed uit de oorvene afgetapt. Er werd zoo lang gewacht, omdat volgens *d' Hérelle* bij groote hoeveelheden Bacteriophagaag de immuniteit langer op zich laat wachten, door een overgevoeligheid, die optreedt, nadat de Bacteriophagaag uit het bloed verdwenen is.

Van het afgetapte bloed werd respectievelijk het serum 504 en 505 gewonnen, welker werking op duiven beproefd werd, door deze in te spuiten met 0.5 cc. van een mengsel van 48 uur oude bouillonculturen van verschillende stammen en met verschillende doseeringen van de sera. Van het serum 504 kreeg duif 308 0.5 cc., duif 309 1 cc., duif 310 2 cc. en duif 311 5 cc. Dit werd intramusculair ingespoten. Evenzoo kregen de duiven 312, 313, 314 en 315 resp. 0.5, 1, 2 en 5 cc. van het serum 505. Duif 314, die werd ingespoten met 0.5 cc. cultuur en 2 cc. van het serum. 505 stierf kort na de injectie, door het aanprikken van een arterie tijdens de injectie, waardoor het dier in de borstspier verbloedde. Er werd geen contrôleduif alleen met cultuur ingespoten, omdat verwacht kon worden, dat de duiven, welke met de laagste serumdoses waren ingespoten, hiervan geen werking zouden ondervinden, zoodat zij dan als contrôle zouden dienen. De duiven 308, 309, 310, 311 en 313 stierven 3 dagen en duif 312 4 dagen na de injecties, terwijl duif 315 in leven bleef. Uit al de gestorven duiven, behalve duif 314, konden vlekziektebacillen gekweekt worden, terwijl in een Gram-preparaat van een uitstrijkje van het bloed de vlekziektebacillen in groot aantal aanwezig waren.

Het serum 504 had dus zelfs in een hoeveelheid van 5 cc. geen beschuttende werking, terwijl het serum 505 dit in deze hoeveelheid wel had. Of een hoeveelheid van 2 cc. van het serum 505 reeds beschutte, kon door het verbloeden van de betreffende duif niet nagegaan worden.

Deze proef kon niet verder voortgezet worden, doordat de konijnen tengevolge van het groote bloedverlies stierven.

Nu werd een nieuwe proef ingezet, waarbij de dieren meerdere malen werden ingespoten met Bacteriophag en de werking van het serum op muizen beproefd werd. Hiervoor is veel minder serum noodig dan wanneer men het serum op duiven controleert.

2 konijnen 565 en 567 werden telkens met 1 week tusschenruimte intraveneus ingespoten met resp. 2, 5 en 10 cc. De laatste dosis werd nog 4 maal met 1 week tusschenruimte geïnjecteerd. Ter contrôle werden 2 konijnen uit een zelfde nest no. 566 en 568 met 1 week tusschenruimte subcutaan ingespoten met 1 cc. cultuur en 5 cc. serum, met 2 cc. cultuur en 5 cc. serum, met 5 cc. cultuur en 5 cc. serum, waarna eveneens met 1 week tusschenruimte 5 cc. cultuur, 10 cc. cultuur en daarna nog 3 maal 10 cc. cultuur intraveneus werd ingespoten.

Na 33 dagen werd konijn 565 en contrôlekonijn 566 bloed afgetapt. Het serum hiervan werd in een hoeveelheid van 0.3 en 0.03 cc. subcutaan bij telkens 2 muizen ingespoten. Na 1 uur werden deze muizen en 2 niet voorbehandelde contrôlemuizen intraperitoneaal ingespoten met 0.01 cc. virulente vlekziektecultuur. De contrôlemuizen stierven na 3 dagen en de muizen, die voorbehandeld waren met serum van konijn 565 na 4 dagen, allen tengevolge van een vlekziektesepticaemie. De muizen, die voorbehandeld waren met serum van konijn 566 bleven in leven.

Na 42 dagen werd er bloed van het konijn 567 en van het contrôlekonijn 568 afgetapt. Konijn 567 had een paar koude afgestorven ooren, waarom het, daar het waarschijnlijk toch sterven zou, werd afgemaakt om zoo tevens bloed te kunnen verkrijgen. De werking van het serum werd op de-

zelfde manier als boven omschreven is onderzocht in hoeveelheden van 0.3 en 0.03 cc.

Die niet met serum ingespoten waren, stierven na 4 dagen door een vlekziektesepticaemie, evenals de muizen, die ingespoten waren met 0.03 cc. van konijn 567, welke na 9 en 10 dagen stierven. De overige muizen bleven in leven.

Hieruit blijkt, dat Bacteriophagaag wel kan immuniseeren, maar het voert de waarde van het serum niet zoo hoog op als cultuur; immers het serum van beide met cultuur geïmmuniseerde konijnen beschutte nog in een hoeveelheid van 0.03 cc., terwijl het serum van het met Bacteriophagaag geïmmuniseerde eerst beschutte in een hoeveelheid van 0.3 cc.

Daarna werd getracht een paard, door herhaalde injecties met Bacteriophagaag te immuniseeren. Bij een vooronderzoek, waarbij het serum op muizen onderzocht werd, bleek het onwerkzaam te zijn. De met serum ingespoten muizen stierven even snel als de niet voorbehandelede contrölemuizen.

Het paard werd wekelijks intraveneus ingespoten met resp. 10 cc., 40 cc., 100 cc. en 300 cc. en daarna nog 5 maal 500 cc. versch bereide Bacteriophagaag. Hierop reageerde het dier alleen na de injectie van 300 cc. met een temperatuursverhooging van 2° C. Het dier vertoonde geen symptomen van een arthritis, hoewel het wegens beengebreken uit de militaire dienst was geëvacueerd.

Na 20 dagen werd bloed afgetapt en het serum er van op muizen onderzocht. Het bleek echter nog steeds onwerkzaam. Na 42 dagen werd de werking van het serum weer onderzocht en nu bleven de muizen, die ingespoten waren met 0.3 en 0.03 cc. serum in leven. De contrölemuizen stierven na 4 dagen. Na 52 dagen werd het serum nogmaals onderzocht, nu ook in doseeringen lager als 0.03 cc. Deze doses konden de muizen echter niet in leven houden.

Daarna werd beproefd of muizen geïmmuniseerd konden worden door hen alleen Bacteriophagaag in te spuiten. Om hier zekerheid te hebben dat niet tijdens de periode van overgevoeligheid de immuniteit werd beproefd, werden ver-

schillende doses Bacteriophaga ingespoten en werd de immuniteit na een verschillend tijdsverloop beproefd. Als controle werden muizen met serum en cultuur geïmmuniseerd.

Op 1/3 werden de muizen 948, 949, 932 en 933 ingespoten met 0.1 cc. geconcentreerden Bacteriophaga, die bereid was door den Bacteriophaga verschillende stammen op te doen lossen en deze daarna te mengen, zoodat deze Bacteriophaga polyvalent was. De muizen 950, 951, 936 en 937 werd hiervan 0.001 cc. subcutaan ingespoten en de muizen 938, 939, 940 en 941 kregen hiervan op de zelfde manier 0.00001 cc. Als controle dienden de muizen 942, 943, 944 en 945, die subcutaan ingespoten werden met 0.1 cc. serum en 0.01 cc. van een mengsel van 48 uur oude bouillonculturen van verschillende stammen.

Op 15/3 werden de 2 eerste muizen uit elke groep intraperitoneaal ingespoten met 0.01 cc. van een mengsel van 48 uur oude bouillonculturen van verschillende stammen. Als meerdere controle werden de niet voorbehandelde muizen 954 en 955 ook met 0.01 cc. van de gemengde cultuur intraperitoneaal ingespoten. De muizen 948 en 942 werden echter niet meer met cultuur ingespoten. Muis 948 liep met een sterk gekromde rug op 15/3 en stierf op 17/3, zonder voor de tweede maal ingespoten te zijn geworden. Muis 942 stierf op 2/3, dus 1 dag na de simultaanenting, maar was door de andere muizen in zijn kooi gedeeltelijk opgegeten, zoodat geen sectie verricht kon worden. Bij muis 948 werd wel sectie verricht, maar hier kon geen vlekziekte geconstateerd worden.

Alle met cultuur ingespoten muizen stierven op 18/3, met uitzondering van muis 951, die in leven bleef. Uit alle gestorven muizen kon vlekziekte gekweekt worden.

Om het in leven blijven van muis 951, dat mij verdacht voorkwam, nader te controleeren, werden 2 muizen intraperitoneaal ingespoten met 0.01 cc. van een soortgelijk cultuurmengsel ingespoten. Deze controles kwamen dus overeen met de controlemuizen 954 en 955, alleen was de ingespoten hoeveelheid kleiner. Een van voornoemde muizen stierf

19 dagen na de enting, waarbij vlekziektebacillen in het bloed aantoonbaar waren, terwijl de andere in leven bleef. Blijkbaar zijn we hier al onder de dosis lethalis minima, zoodat aan het in leven blijven van muis 951, die met 0.01 cc. van dat cultuurmengsel was ingespoten, niet veel waarde gehecht kan worden.

De overblijvende muizen werden op 6/4 op dezelfde manier intraperitoneaal met 0.05 cc. van een cultuurmengsel ingespoten, uitgezonderd muis 932, die reeds op 1/4 aan een andere ziekte dan vlekziekte overleden was.

De muizen 933, 936, 937, 940 en 944 stierven op 10/4 en de muizen 941 en 945 op 12/4, waarbij bij allen vlekziekte aantoonbaar was, zoodat bij het tweede deel der proef alle muizen gestorven waren.

Ook muizen zijn dus niet te immuniseeren met Bacteriophagaag, wat echter ook niet gaat met de gecombineerde enting van serum en cultuur. Dat dit laatste vaak moeilijkheden biedt, blijkt uit vele publicaties, b.v. die van *Rupel* en *Ornstein*.

Nu werd nog de curatieve werking van den Bacteriophagaag beproefd op duiven, door deze intramusculair 0.5 cc. van een mengsel van 48 uur oude bouillonculturen van verschillende stammen in te spuiten. Bovendien werd een mengsel van geconcentreerde Bacteriophagen, die tegen verschillende stammen werkzaam waren, ingespoten en wel: duif 261 5 cc., duif 262 1 cc., en duif 263 0.2 cc., terwijl duif 264 geen Bacteriophagaag ontving en als contrôle diende.

Na 3 dagen stierven de duiven 261, 263 en 264 en na 4 dagen de duif 262. Bij allen was vlekziekte aantoonbaar, maar in uitstrijkjes van het bloed uit het hart was opmerkelijk, dat bij de duiven 261 en 262, welke dus resp. 5 en 1 cc. Bacteriophagaag hadden gehad, een sterke hyperleucocytose aanwezig was en weinig bacillen, terwijl bij de 2 andere duiven veel minder leucocyten, maar vele bacillen zichtbaar waren. Bovendien waren in de 2 eerste duiven veel meer bacillen gefagocyteerd dan in de 2 laatste.

Preventieve werking bij varkens

Hiervoor werden varkens ingespoten met Bacteriophagaag of met Bacteriophagaag en cultuur, naast een contrôle, die met serum en cultuur geïmmuniseerd werd. Na verloop van 2—3 weken, soms langer, werd de immuniteit beproefd door de dieren subcutaan met cultuur in te spuiten of te scarificeren en de cultuur in deze scarificaties in te wrijven. Bovendien werden ter contrôle eenige niet voorbehandelde varkens op dezelfde manier geïnfecteerd. De gebruikte Bacteriophagaag was steeds geconcentreerd en polyvalent. De cultuur werd steeds zoo virulent mogelijk ingespoten, of doordat ze door een duif gepasseerd was, of doordat ze kort tevoren uit een aan vlekziekte gestorven varken gekweekt was.

Proef A: Van 3 varkens van ongeveer 50 K.G. lichaamsgewicht werden op 2/3 twee ingespoten, namelijk no. 148 met 0.5 cc. Bacteriophagaag en no. 149 met 0.5 cc. cultuur en 10 cc. serum, terwijl no. 150 apart gezet werd en als contrôle diende.

Op 6/4 werden al de varkens op de flankhuid gescarificeerd op een plek van ongeveer 1 dM. in het vierkant, met het instrument, dat ook voor de enting met Emphyton gebruikt wordt. In deze scarificaties werd daarna cultuur ingewreven. Het varken 149 vertoonde geen verhooging van temperatuur, noch reactie op de entplaats.

De temperatuur van het varken 148 was op 10/4 's morgens 41.3, 's avonds 41.5, op 11/4 's morgens 41.3, 's avonds 40.8. Toen werd 40 cc. serum ingespoten om het dier te redden en op 12/4 was de temperatuur 's morgens 39.1 en 's avonds

38.9; de temperatuur bleef verder normaal. Het contrôlevarken 150 had op 10/4 's morgens een temperatuur van 41.2, 's avonds 41.3, op 11/4 's morgens 41.7, 's avonds 41.2. Ook hier werd 40 cc. serum ingespoten; de temperatuur was op 12/4 's morgens 41.7 's avonds 39.5, op 13/4 38.4 en 37.8, waarna ze verder normaal bleef.

De entplaats van varken 149 vertoonde geen reactie, bij varken 148 was op 7/4 niets te bespeuren, op 8/4 was er een harde zwelling ter plaatse van de scarificaties en ter grootte van de gescarificeerde oppervlakte, welke zwelling op 10/4 begon te verminderen en op 13/4 geheel verdwenen was. Bij het contrôlevarken 150 was op 7/4 ook nog geen reactie merkbaar, op 8/4 was er echter een zwelling ter grootte van een hand, dus tweemaal zoo groot als de gescarificeerde oppervlakte. Deze begon eerst op 11/4 te verminderen en was op 13/4 nog merkbaar.

Men zag hier dus, dat varken 149, volgens de simultaanmethode geïmmuniseerd, geheel immuun was. Varken 148, met Bacteriophag geïmmuniseerd, reageerde wel, maar minder dan de contrôle 150.

Proef B: 6 varkens van ongeveer 50 K.G. lichaamsgewicht werden op 13/4 als volgt behandeld: varken 152 kreeg subcutaan 0.1 cc. Bacteriophag, varken 154 kreeg subcutaan 0.25 cc. Bacteriophag, varken 155 kreeg subcutaan 0.5 cc. Bacteriophag en werd met cultuur in scarificaties ingewreven, varken 156 kreeg subcutaan 1 cc. Bacteriophag en 0.5 cc. cultuur, varken 157 werd geïmmuniseerd met 10 cc. serum en 0.5 cc. cultuur, varken 153 diende als contrôle bij het beproeven van de immuniteit.

Geen van deze dieren reageerde door temperatuursverhoging, noch die, welke met cultuur in scarificaties ingewreven waren, door een locale reactie.

Op 4/5 werd de immuniteit onderzocht door alle dieren te scarificeren en cultuur in de scarificaties in te wrijven. Geen van allen vertoonde een locale noch een algemeene reactie,

zoodat de infectie niet aansloeg en over de immuniteit der dieren niet geoordeeld kon worden.

Proef C: 6 varkens van ongeveer 75 K.G. lichaamsgewicht werden op 18/5 als volgt behandeld: Varken 170 kreeg subcutaan 0.1 cc. Bacteriophag, varken 165 kreeg subcutaan 0.25 cc. Bacteriophag, varken 167 kreeg subcutaan 1 cc. Bacteriophag en werd met cultuur in scarificaties ingewreven; varken 168 kreeg 15 cc. serum en werd met cultuur in scarificaties ingewreven, varken 169 diende als contrôle en werd met cultuur in scarificaties ingewreven en varken 166 diende als contrôle wanneer de immuniteit beproefd zou worden.

Geen van de met cultuur ingewreven varkens vertoonde een locale reactie, en geen van allen een algemeene reactie, behalve de contrôle 169, die op 19/5 en 22/5 een temperatuur van 40.2 had, welke daarna weer tot het normale terugzonk.

Op 8/6 werden alle varkens gescarificeerd en werd cultuur in de scarificaties ingewreven.

Contrôlevarken 166 vertoonde op 10/6 een geringe zwelling ter plaatse van de scarificaties, echter zonder temperatuursverhooging.

Contrôlevarken 169, welke eerder gescarificeerd was vertoonde geen locale reactie, maar had op 10/6 een temperatuur van 40.2, welke daarna weer normaal werd.

Varken 170, ingespoten met 0.1 cc. Bacteriophag, vertoonde op 15/6 en 16/6 een temperatuur van 40.2, die daarna weer normaal werd; hier was geen locale reactie waarneembaar.

De overige 3 varkens vertoonden noch een locale, noch een algemeene reactie.

Hier is dus wel een aanwijzing, maar geen overtuigend resultaat, dat de varkens met 0.25 cc., met Bacteriophag en cultuur, en met serum en cultuur ingespoten, immuun, of tenminste meer weerstandbiedend, waren dan de andere 3 varkens.

Proef D: 6 varkens van ongeveer 50 K.G. lichaamsgewicht werden op 21/6 als volgt behandeld: varken 172 kreeg sub-

cutaan 0.1 cc. Bacteriophaga, varken 173 kreeg subcutaan 0.25 cc. Bacteriophaga, varken 176 kreeg subcutaan 1 cc. Bacteriophaga, 0.5 cc. cultuur en werd tevens met cultuur in scarificaties ingewreven, varken 171 kreeg subcutaan 10 cc. serum, 0.5 cc. cultuur en werd ook met cultuur in scarificaties ingewreven, varken 174 diende als contrôle en kreeg 0.5 cc. cultuur subcutaan en werd met cultuur in scarificaties ingewreven, varken 175 werd niet behandeld en moest als contrôle dienen bij het beproeven van de immuniteit.

De varkens, die met cultuur in scarificaties waren ingewreven, reageerden geen van allen lokaal; geen der varkens vertoonde temperatuursverhoging, behalve varken 171, ingespoten met cultuur en serum, die een wisselende temperatuur vertoonde, met een hoogste temperatuur op 23/6 van 40.3.

Op 15/7 werden alle varkens subcutaan ingespoten met 10 cc. cultuur en werd cultuur in scarificaties ingewreven, terwijl op 17/7 bovendien nog eens 5 cc. cultuur van de Rijksseruminrichting subcutaan werd ingespoten.

Geen der varkens vertoonde een locale reactie.

Varken 172, ingespoten met 0.25 cc. Bacteriophaga had op 12/7 een temperatuur van 40°, overigens was de temperatuur normaal.

Varken 176, ingespoten met Bacteriophaga en cultuur, had op 19/7 een temperatuur van 40°, welke verder normaal bleef.

Varken 177 ingespoten met serum en cultuur, had op 15/7 een temperatuur van 40°, welke daarna om en bij de 40° bleef tot 21/7, toen hij tot het normale daalde.

Contrôlevarken 174 die alleen met cultuur ingespoten was, vertoonde op 15/7 en 18/7 een temperatuur van 40°; overigens was de temperatuur normaal.

Contrôlevarken 176, die niet voorbehandeld was, vertoonde in het geheel geen reactie.

Hier kan men dus geen conclusies uit trekken, daar de uitkomsten te wisselend zijn.

Proef E: 4 varkens van ruim 100 K.G. lichaamsgewicht

werden nu genomen om de infectie bij vette varkens te beproeven; zij werden op 11/8 als volgt behandeld:

Varken 179 kreeg subcutaan 2 cc. Bacteriophagaag en 1 cc. cultuur, varken 180 kreeg 20 cc. serum en 1 cc. cultuur, varken 178 diende als contrôle en kreeg subcutaan 1 cc. cultuur, varken 177 moest als contrôle dienen bij het beproeven van de immuniteit.

Alleen varken 178 reageerde op deze behandeling; hij had op 15/8 een temperatuur van 40° , de andere varkens vertoonden in het geheel geen verhooging.

Op 1/9 werden alle varkens subcutaan ingespoten met 10 cc. cultuur, waarop geen van allen eenige temperatuursverhooging vertoonde.

Op 13/9 werd nogmaals 2 cc. van een cultuur ingespoten, die pas uit een varken was gekweekt; hoewel tusschen deze enting en de vorige 12 dagen verlopen waren, waardoor alle varkens een zekere graad van immuniteit verkregen moesten hebben, werd toch gehoopt, dat de contrôlevarkens door een temperatuursverhooging op deze injectie met zeer virulente cultuur zouden reageeren. Geen der varkens vertoonde echter eenige temperatuursverhooging.

Hier zijn dus geen conclusies te trekken omtrent het al of niet immuun zijn der varkens. Wel is er een aanwijzing voor, dat Bacteriophagaag, evenals serum, beschuttend werkt, daar bij de eerste injectie op 11/8 alleen het contrôlevarken met een lichte verhooging reageerde, terwijl de varkens, die met serum en Bacteriophagaag ingespoten waren, in het geheel niet reageerden.

Proef F: Voor deze proef werden 6 varkens genomen van ongeveer 40 K.G. lichaamsgewicht. Op 15/8 werden de nos. 181 en 182 subcutaan ingespoten met 2 cc. cultuur en 1 cc. Bacteriophagaag, no. 184, werd subcutaan ingespoten met 2 cc. van de cultuur, die resistent was tegen de Bacteriophagaagwerking, de nos. 183 en 185 dienden als contrôle. Geen dezer dieren vertoonde eenige reactie. Dus ook de resistente

culturen zijn niet in staat vlekziekte experimenteel gemakkelijk op te wekken.

Op 1/9 werden de varkens bij een boer gebracht, wiens stallen besmet waren met vlekziekte (zie geval XVI, volgend hoofdstuk). Hier was eenigen tijd tevoren een nieuw koppel varkens gebracht, waaronder 5 dagen nadat ze op stal gekomen waren, vlekziekte uitbrak. Ook deze wijze van infectie gaf echter geen resultaat; geen der varkens vertoonde eenige ziekteverschijnselen, noch temperatuursverhooging.

Proef G: Om na te gaan, wat uit de vorige proeven al wel eenigermate gebleken was door een lichte verhooging bij de contrôlevarkens 4—6 dagen na de infectie met vlekzieke-cultuur, welke verhooging bij de tevens met Bacteriophag ingespoten dieren niet voorkwam, of de Bacteriophag een beschuttende werking heeft en dus entvlekziekte zou kunnen voorkomen, werden op 8/7 twee biggen van ongeveer 20 K.G. lichaamsgewicht ingespoten met 20 cc. vlekziekecultuur en werd vlekziekecultuur in scarificaties ingewreven. No. 160 kreeg bovendien 1 cc. Bacteriophag subcutaan, no. 159 diende als contrôle. Van een locale reactie op de plaats van de scarificaties bleek bij beide dieren niets, maar varken 159 had op 8/7 's avonds een temperatuur van 38.9, op 9/7 's morgens 39.8, 's avonds 40.6. Daarna bleef de temperatuur tot 13/7 's avonds tusschen de 40 en 41, en op 13/7 's avonds werd ze 41.2. Op 14/7 was de temperatuur 39.8 en verder bleef ze hieronder. Op 14/7 verscheen op de bil een typische vlekziekevlek, die langzamerhand verdween en op 19/7 geheel verdwenen was.

Varken 160 vertoonde geen verhooging van de temperatuur tot den avond van 12/7 en den morgen van 13/7, toen de temperatuur resp. 40.6 en 40.2 was, waarna ze weer tot het normale daalde.

Varken 159 wilde de eerste 5 dagen na de injectie weinig eten, nadat de temperatuur tot het normale was gedaald, verbeterde ook de eetlust weer.

Varken 160 behield voortdurend zijn eetlust.

De lichte temperatuurstijging, welke varken 160 vertoonde is zeer zeker alleen te wijten aan de groote hoeveelheid cultuur, die het werd ingespoten, welke hoeveelheid cultuur echter in zeer korten tijd onschadelijk werd gemaakt; dit duurde bij varken 159 veel langer. Deze proef bewijst dus wel, dat de Bacteriophag bij een varken, dat met cultuur is ingespoten, de schadelijke gevolgen van de cultuurwerking kan opheffen.

Proef H: Deze proef was genomen om nader te bewijzen dat de Bacteriophag varkens tegen entvlekziekte kan beschutten. 10 varkens van ongeveer 40 K.G. lichaamsgewicht werden 2/9 als volgt behandeld: de nos. 198, 199, 200, 201 en 902 kregen subcutaan 5 cc. vlekziektecultuur, de nos. 193, 194, 194, 196 en 197 kregen subcutaan 5 cc. vlekziektecultuur en 2 cc. van een geconcentreerde bacteriophag, welke het laatst op de ingespoten stam was werkzaam geweest. Alle temperaturen schommelden tusschen de 39 en 40° en waren zeer wisselend, zoodat er geen conclusies uit getrokken konden worden.

Curatieve werking bij Varkens

Hierbij werd de Bacteriophagaag in de practijk bij spontane vlekziektegevallen ingespoten, meestal in een hoeveelheid van 10 cc. In enkele gevallen werd bij koppels, waarin meerdere varkens ziek waren, eenige dezer met serum behandeld, om de werking van den Bacteriophagaag met die van het serum te kunnen vergelijken. In alle gevallen werd steeds een geconcentreerde, polyvalente Bacteriophagaag gebruikt, die op de vroeger beschreven manier bereid werd. Het gebruikte serum was afkomstig van de Rijksseruminrichting.

Bij dit onderzoek stuitte ik op verschillende moeilijkheden: in de eerste plaats is er dit jaar, tenminste in de omgeving van Utrecht weinig vlekziekte voorgekomen. De dierenartsen maakten slechts ongaarne van den Bacteriophagaag gebruik, aangezien hun het serum, van welks goede werking zij zeker waren, ten dienste stond. Indien zij den Bacteriophagaag dan al gebruikten, was dit vaak in gevallen, waarbij de ziekte reeds zoo lang bestond of waarin de dieren zoo zwaar ziek waren, dat de werking van het serum ook al twijfelachtig was. Verder kon in de meeste gevallen, waarin de varkens stierven, door mij geen sectie verricht worden, omdat ik eerst bericht kreeg van het sterven der dieren als deze reeds lang dood waren. De proeven II, IV en V zijn door dierenartsen in hun practijk gedaan. Bij het trekken mijner conclusies heb ik steeds het ongunstigste geval gerekend, namelijk, dat al deze dieren gestorven waren aan vlekziekte.

I. Op 6/5 werd bij v. L. één varken aangetroffen uit een koppel van 16 varkens van circa 75 K.G. lichaamsgewicht, dat sinds één dag niet meer at en een temperatuur van 39.8

vertoonde. Ondanks de betrekkelijk lage temperatuur, werd aan vlekziekte gedacht, omdat eenige dagen tevoren uit het zelfde koppel een zieke met een temperatuur van 41.0 was ingespoten met vlekziekteserum en daarop genezen was. Het eerstgenoemde dier bleef gedurende het onderzoek en het subcutaan inspuiten van 10 cc. Bacteriophagaag stil liggen, hoewel de toestand niet zoodanig was, dat de lage temperatuur reeds te wijten zou kunnen zijn aan den naderenden dood, temeer daar het dier eerst zoo kort ziek was. Den volgenden dag was het dier weer volkomen gezond en vlug en at weer; de temperatuur was toen 38.9.

II. 24/5 werden te L. 3 zieke varkens uit een koppel, elk van ongeveer 40 K.G. lichaamsgewicht als volgt behandeld: de varkens 1 en 2 maakten een gelijkelijk zieken indruk; varken 3 was veel zwaarder ziek. Varken 1 kreeg vlekziekteserum, varken 2 werd subcutaan met 7 cc. Bacteriophagaag ingespoten en varken 3 werd subcutaan met 8 cc. Bacteriophagaag ingespoten. Den volgenden dag was het varken 1 genezen, de toestand van varken 2 was veel verbeterd, maar varken 3 was niets beter geworden. De beide laatste dieren kregen nogmaals dezelfde dosis Bacteriophagaag als de eerste maal. Daarop is varken 2 genezen, maar varken 3 werd zieker, zoodat het dier nu vlekziekteserum werd ingespoten, waarna het echter toch stierf.

II. Op 12/6 werden bij v. V., bij een koppel van 30 varkens van ongeveer 50 K.G. lichaamsgewicht 5 zieke varkens gevonden. No. 1, die sinds een dag niet meer at, was zwaar ziek, ooren en buik waren blauw verkleurd, de temperatuur was 41.8°. Deze werd met vlekziekteserum behandeld en was den volgenden dag oogenschijnlijk wat beter met een temperatuur van 41.5°. 3 dagen na de seruminjectie stierf hij echter.

No. 2 had een temperatuur van 41.6°. Deze werd met vlekziekteserum behandeld, was den volgenden dag wel beter, maar had nog een temperatuur van 41.5°. Deze is daarna geheel gezond geworden.

No. 3 had ook een temperatuur van 41.6° , maar deze werd met 10 cc. Bacteriophag subcutaan ingespoten. Den volgenden dag was deze ook veel verbeterd en vertoonde nog een temperatuur van 41.3° . Daarna werd ook deze weer geheel gezond.

No. 4 had een temperatuur van 41.3° . Deze werd met vlekziekteserum behandeld en was den volgenden dag weer geheel gezond.

No. 5 had ook een temperatuur van 41.5° en werd met 10 cc. Bacteriophag subcutaan ingespoten. Ook deze was den volgenden dag weer geheel genezen.

IV. Op 3/7 was te L. een varken van ongeveer 80 K.G. lichaamsgewicht ziek. Deze werd op 3/7 en 4/7 subcutaan met 10 cc. Bacteriophag ingespoten. Op 5/7 was nog geen beterschap te bespeuren, waarop herhaalde malen vlekziekteserum werd ingespoten, zonder dat echter volledig herstel volgde.

V. Op 4/7 werd te L. een ziek varken van ongeveer 75 K.G. lichaamsgewicht met vlekziekteserum ingespoten. Toen op 5/7 geen beterschap opgetreden was, werd 10 cc. Bacteriophag subcutaan ingespoten, wat op 6/7 werd herhaald. Beterschap trad echter niet in en het dier stierf.

VI. Op 27/7 werd te L. een zwaar ziek varken van ongeveer 80 K.G. lichaamsgewicht subcutaan ingespoten met 10 cc. Bacteriophag. Den volgenden dag was het dier reeds gestorven.

VII. Op 7/8 werden bij G., bij een koppel van 9 varkens van ongeveer 50 K.G. lichaamsgewicht, 6 varkens met een temperatuur van boven de 41° aangetroffen, de 3 overige hadden een temperatuur boven de 40° . Van een der varkens was opgemerkt dat het dier slecht gegeten had. Een der varkens, met een temperatuur boven de 40° en een der varkens met een temperatuur boven de 41° , werden met 10 cc. Bacteriophag subcutaan ingespoten, alle andere met serum. Den volgenden dag waren alle varkens gezond en was er geen verschil tusschen de met serum en de met Bacteriophag behandelde dieren op te merken.

VIII. Op 9/8 werd bij B., bij een koppel van 7 varkens van ongeveer 70 K.G. lichaamsgewicht, 1 zieke met een temperatuur van 41.8° aangetroffen, die sinds den vorigen dag ziek zou zijn volgens de anamnese. Deze werd subcutaan met 10 cc. Bacteriophag ingespoten en was den volgenden dag weder geheel genezen.

IX. Op 20/8 werd bij J. bij een koppel van 12 varkens van ongeveer 75 K.G. lichaamsgewicht, 1 zieke aangetroffen, welke reeds langer ziek was, aan buik en ooren een blauwe verkleuring vertoonde en een temperatuur van 41.3° had. Deze werd subcutaan met 10 cc. Bacteriophag ingespoten, maar was den volgenden dag gestorven.

X. Op 20/8 werden bij de G., bij een koppel van 14 varkens van ongeveer 25 K.G. lichaamsgewicht, 2 zieken aangetroffen met een temperatuur van resp. 41.3° en 41.6° , welke sinds een dag ziek waren. Beiden werden met 10 cc. Bacteriophag ingespoten en waren den volgenden dag beterende en zijn later geheel genezen.

XI. Op 20/8 werd bij B., bij een koppel van 5 varkens van ongeveer 50 K.G. lichaamsgewicht, 1 zieke aangetroffen, die sinds 1 dag niet meer at en een temperatuur van 40.8° vertoonde. Deze werd subcutaan met 10 cc. Bacteriophag ingespoten en genas.

XII. Op 21/8 werd bij v. E., bij een koppel van 14 varkens van ongeveer 50 K.G. lichaamsgewicht, 1 zieke aangetroffen. Deze had sinds 2 dagen niet meer gegeten, buik- en oorhuid vertoonden een livide blauwe verkleuring, de temperatuur was 41.3° . Deze werd met 10 cc. Bacteriophag subcutaan ingespoten, maar stierf 2 dagen na de injectie.

XIII. Op 25/8 werd bij D., bij een koppel van 6 varkens van ongeveer 75 K.G. lichaamsgewicht, 1 zieke aangetroffen, welke sinds 1 dag niet meer at en een temperatuur van 41.3° had. Dit dier werd subcutaan met 10 cc. Bacteriophag ingespoten, 3 dagen later was het dier niet veel beter en vertoonde het nu vlekken. Nu werd vlekziekteserum ingespoten en hierop genas het dier.

XIV. Op 8/9 werd bij V., bij een koppel van 7 varkens van ongeveer 100 K.G. lichaamsgewicht, 1 zieke aangetroffen, welke sinds 1 dag niet meer at en een temperatuur van 41.3° vertoonde. Op de flank had dit dier een typische vlekziektevlek. Er werd 10 cc. Bacteriophag subcutaan ingespoten. Na 2 dagen was de vlek verdwenen en de temperatuur was gedaald tot 39.5° , maar het dier was nog steeds traag en at niet voldoende. Nu werd vlekziekteserum ingespoten. Hierna veranderde de toestand echter niet, en 10 dagen later stierf het dier. Waarschijnlijk is hier een endocarditis, tengevolge van de vlekziekte opgetreden, waardoor het dier tenslotte succumbeerde.

XV. Op 9/9 werden bij d. G., bij een koppel van 15 varkens van ongeveer 75 K.G. lichaamsgewicht, 4 zieken aangetroffen met temperaturen boven de 41° , en welke sinds 1 dag niet aten. Deze boer had in de loop van den zomer reeds eerder vlekziekte onder zijn varkens gehad, die toen curatief waren ingespoten of geïmmuniseerd volgens de simultaanmethode. De betreffende koppel was op 4/9 gekocht en na 5 dagen verblijf in de nieuwe stal, waren er 4 van ziek geworden. Deze 4 zieken werden subcutaan met 10 cc. Bacteriophag ingespoten. Allen waren den volgenden dag reeds veel beter en genazen in korten tijd geheel.

XVI. Op 11/9 werd bij V., bij een koppel van 6 varkens van ongeveer 30 K.G. lichaamsgewicht, 1 zieke aangetroffen, welke sinds 2 dagen niet meer at en een temperatuur van 41.4 had. Deze werd met 10 cc. Bacteriophag ingespoten en was den volgenden dag reeds genezen.

Bij al de bovenstaande gevallen stond de diagnose vlekziekte klinisch vast. In het algemeen werd de diagnose vlekziekte voornamelijk gesteld op de hoge temperatuur, in verband met het afwezig zijn van diarree of het aanwezig zijn van obstipatie. In de gevallen, waarin „Backsteinblätter” zichtbaar waren, is dit vermeld, en daar is de diagnose als vaststaand te beschouwen.

In geval I zou men de diagnose vlekziekte in twijfel kunnen trekken, doordat de temperatuur zoo laag was, maar daar er kort tevoren in dezelfde stal vlekziekte was geconstateerd, kan men dit geval wel beschouwen als een eerste begin der ziekte, waarin de temperatuur nog niet hoog was opgelopen, maar het dier al wel de eetlust had verloren. In de gevallen II, III, VII en XIII stond de diagnose ook vast, doordat de met serum ingespoten, zieke dieren genazen.

In geval XIII kwamen na de enting met Bacteriophag de vlekken te voorschijn en dit dier genas na een volgende inspuiting met serum, zoodat ook hier de diagnose als vaststaand aan te nemen is. In geval XIV is door het aanwezig zijn van een urticariavlek de diagnose ook zeker juist, hoewel dit dier na de volgende enting met serum toch stierf. In de andere gevallen werd de diagnose niet nader bevestigd, maar daar was vlekziekte klinisch zeker aanwezig.

Gaan we nu na, wat voor resultaat de Bacteriophag gehad heeft, dan zien we, dat in de gevallen I, III, VII, VIII, X, XI, XV en XVI een volkomen succes kon worden geboekt, terwijl in geval II één der varkens in leven bleef, terwijl het andere die, dat zwaar ziek was, stierf. In de gevallen VI, IX en XII had de Bacteriophag ook geen succes, maar bij die gevallen vinden we vermeld, dat de varkens zwaar ziek waren, zoodat in die gevallen serum waarschijnlijk ook weinig resultaat gehad zou hebben; dit blijkt uit proef III, waar een zwaar ziek, met serum behandeld dier, stierf. In de gevallen IV en XIV had ik ook geen succes met den Bacteriophag, maar het daarna ingespoten serum had evenmin succes, daar de dieren na langeren tijd, misschien door een endocarditis, stierven. Bovendien kan men opmerken, dat deze 2 gevallen zware varkens betroffen, waarvan bekend is, dat daarbij gemakkelijk een endocarditis optreedt. In deze gevallen bestaat echter de mogelijkheid, dat indien het serum direct ingespoten was, het wel geholpen zou hebben. Deze mogelijkheid bestaat echter in omgekeerde richting voor geval III, waar eerst serum, en toen dat niet hielp, Bacteriophag

ingespoten werd, echter ook zonder resultaat. In al de gevallen, waarin serum zonder resultaat was ingespoten, bestaat ook nog de mogelijkheid, dat de diagnose niet juist gesteld was en er een andere ziekte in het spel was; hiervan moet echter geval XIV uitgezonderd worden, daar hier door het aanwezig zijn van een urticariavlek de diagnose vaststond. Alleen in geval XIV was een beslist negatief resultaat, daar hier na de Bacteriophag-inspuiting geen beterschap intrad, wat wel gebeurde, toen daarna serum ingespoten werd.

Nemen we het ongunstigste geval, dat in alle proeven werkelijk vlekziekte aanwezig was, dan zien we nog, dat de Bacteriophag bij 15 van de 23 varkens genezing gaf. Aan de hand van bovenstaande beschouwing van de gevallen zouden we misschien tot een hooger percentage van gunstige resultaten kunnen komen. Als we de mooiste proeven, die waarin in 1 koppel de werking van den Bacteriophag naast die van het serum nagegaan werd, dan zouden we ook zeker een hooger percentage verwachten. Deze proeven bewijzen in ieder geval wel, dat de Bacteriophag curatieve waarde heeft.

Beschouwingen en Conclusies

Uit de experimenten bij kleine proefdieren in verband met de experimenten bij varkens blijkt, dat men zeer voorzichtig moet zijn met het trekken van conclusies op grond van onderzoekingen, die verricht zijn bij kunstmatig geïnfecteerde dieren, waarbij de natuurlijke infectie niet voorkomt. Hiervoor wordt ook door *d' Hérèlle* gewaarschuwd. Bij de experimenten bij kleine proefdieren bleek alleen, dat men bij konijnen met Bacteriophaga eenige immuniteit kan opwekken en dat de opsonische index bij duiven door den Bacteriophaga verhoogd wordt; alle andere proeven gaven een negatief resultaat.

Bij het paard kon door herhaalde injecties met Bacteriophaga ook een serum verkregen worden, dat reeds in betrekkelijk geringe hoeveelheid muizen beschutte tegen een infectie met vlekziektebacillen,

De experimenten bij varkens over de mogelijkheid van het immuniseeren met Bacteriophaga alleen of met Bacteriophaga en cultuur zijn ook negatief verlopen, althans zonder voldoende resultaat om er met zekerheid vaststaande conclusies uit te kunnen trekken. Wel is er aanwijzing voor, dat met Bacteriophaga alleen een zekere mate van immuniteit kan opgewekt worden (proef A). Bovendien blijkt uit het feit, dat in vele proeven de met Bacteriophaga en cultuur ingespoten dieren geen en de alleen met cultuur ingespoten dieren wel een verhooging vertoonden, dat de Bacteriophaga in staat is om entvlekziekte te voorkomen. (Dit wordt nog meer bewezen door de curatieve werking van den Bacteriophaga).

Daar de dieren met cultuur ingespoten worden, mag men

mijns inziens wel aannemen, dat ze daardoor immuun worden, hoewel dit uit de proeven niet blijkt.

Bij de proeven in de praktijk bij zieke varkens blijkt, dat van de 23 behandelde zieke dieren, verdeeld over 16 verschillende koppels er 15 genazen, na een injectie met Bacteriophagaag, dat is 65 $\frac{0}{0}$. Het aantal gevallen is echter te klein om er verdere conclusies uit te trekken, maar de resultaten rechtvaardigen zeer zeker een verder onderzoek in deze richting.

C. Colibacillosis bij kalveren

Het is een septicaemie van zeer jonge kalveren, die door een virulente Colistam wordt veroorzaakt. De natuurlijke infectie heeft per os of langs de navel plaats. Dit moet bij nog nuchtere kalveren geschieden in de eerste levensdag, aangezien na dien tijd de navelring zich gesloten heeft en daarlangs de infectie niet meer plaats kan grijpen en de lebmaag, die door de biest tot activiteit is aangezet, door zijn zuurgraad een groot deel der bacteriën doodt. terwijl de functioneerende darm ook veel resistenter is, temeer daar ze nu niet meer gevuld is met meconium, wat een goede voedingsbodem voor de bacteriën is. Op lateren leeftijd kan men het kalf nog wel doden door een virulente Colistam subcutaan of intraveneus in te spuiten. De virulente Colibacil kan in de faeces van de moeder voorkomen, en daarmee in de geheele stal, die door de moeder besmet is geworden.

De geïnfecteerde dieren vertoonen, soms al direct na de geboorte, soms eerst na eenige dagen de eerste ziekteverschijnselen. Zij worden slap, wankelen op de beenen, liggen veel, willen niet drinken en hebben spierrillingen, soms zelfs krampen, vooral aan de nekspieren. Zij hebben koorts, een versnelde ademhaling en een versnelde pols. De neusspiegel is droog en vaak bedekt met korsten, terwijl bij iedere ademhaling de neusgaten wijd opengaan. Al spoedig treedt diarrhee op, waarbij anus en omgeving bevuild worden. Soms ziet men deze diarrhee al bij pasgeboren kalveren, waarbij het meconium door de verhoogde secretie der darmklieren minder vast wordt. De haren worden glansloos en gaan overeind staan, de huid ligt vast. De oogen liggen diep in hun kassen

en zijn dof. Na 2 tot meer dagen sterven de dieren in coma.

Soms ziet men een arthritis en een ontsteking van de pees-scheeden, optreden, waarbij meestal de andere symptomen minder geprononceerd zijn.

Zelden treedt genezing op en dan nog slechts ten deele, daar de organen meest zoo gelaedeerd zijn, dat de dieren slecht groeien.

Bij de sectie ziet men de glanslooze, opstaande haren, de stugge huid en de met faeces bevuilde achterhand. Vaak treft men een ontsteking der amnionscheede, der navelvaten en van het weefsel om de navelring aan. Soms ziet men geen ontstekingsverschijnselen, terwijl toch het weefsel, vooral de thromben in de navelarteriën, doorgroeid zijn met *Colibacillen*. Verder ziet men septicaemische veranderingen: de lever is bloedrijk, murw; de milt is gezwollen, donkerrood. Ook de mesenteriale klieren zijn vaak zeer vergroot, soms haemorrhagisch ontstoken. In het colon is behalve de te dunne faeces meest weinig te zien. Het rectum en de anus zijn vaak ontstoken. Soms ziet men een cystitis, die van uit de urachus opgekropen is. De longen zijn normaal. In het pericard bevindt zich soms overvloedig sereus vocht. Verder vindt men petechiën op de serosae, vooral aan het hart. Bij een arthritis ziet men dikke gewrichten, waarin men bij insnijding sereus vocht, waarin vlokjes drijven, vindt. De *Colibacillen* zijn gemakkelijk en overvloedig in alle organen van het dier aantoonbaar.

Poels constateerde reeds, dat er 2 variëteiten van *Colibacillen* zijn: een virulente stam, of tenminste een stam, die zijn virulentie gemakkelijk zoo verhoogen kan, dat hij den dood van een er mee geïnfecteerd kalf veroorzaakt, en een gewone niet virulente stam.

De eerste geeft generalisatie en een septicaemie, terwijl de laatste een lokaal etteringsproces met necrose geeft, indien zij in den navel van een pasgeboren kalf wordt ingespoten. Toch kan ook een avirulente stam onder de bovenomschreven symptomen tot een lethaal einde voeren, doordat zijn toxinen

van uit de locale haard worden opgenomen en een toxinaemie veroorzaken. Door een weinig gedooide cultuur in te spuiten kan men den dood van een jong kalf onder bovengenoemde symptomen en sectieverschijnselen te voorschijn roepen, meestal echter blijft het proces geheel lokaal en wordt de toxinaemie door een doorbraak van het abces naar buiten tijdig opgeheven. De avirulente Colistammen zijn uit runderfaeces van onbesmette stallen en uit menschenfaeces te winnen. Vooral de Coli uit den mensch is zeer weinig pathogeen voor het kalf.

Het doel mijner proeven was na te gaan of de Bacteriophag bij deze ziekte ook een preventieve of curatieve werking had. Hiervoor werden 8 Colistammen verzameld; die uit gevallen van Colibacillosis gekweekt waren, namelijk de stammen A, B, C, D, E, F, G en H. Tegen deze stammen werd een Bacteriophag gezocht, door in de eerste plaats verschillende faecesmonsters te onderzoeken op de aanwezigheid van Bacteriophag tegen de bovengenoemde Colistammen. Een faecesmonster van een volkomen normaal kalf bleek een Bacteriophag te bevatten, die vrij sterk werkte op de F cultuur en zwak op de A cultuur, dat is de Bacteriophag I. Uit een kalf, dat gestorven was aan Colibacillosis, werd een Bacteriophag II gewonnen, die werkzaam was op de cultuur H; een Bacteriophag III werd verkregen uit de faeces van een veulen, dat 8 dagen tevoren een wormkuur had ondergaan. Deze bleek werkzaam te zijn tegen de stam B. Een paar Bacteriophagen, die reeds op het laboratorium aanwezig waren, en werkzaam waren op Pullorum, werden met de Colistammen in cultuur gebracht. De Pullorum-Bacteriophag B was zwak werkzaam op de Colistam B, de Pullorum Bacteriophag A was goed werkzaam op de stam B. De Bacteriophag IV was goed werkzaam op de stammen B en D en zwak werkzaam op de stammen A en G.

Daarna werd getracht Bacteriophag te verkrijgen door een varken de Coliculturen door het voer te geven en daarna in te spuiten met pilocarpine, waardoor de faeces wat dunner

werden. Er werd beproefd kunstmatig diarrhee op te wekken, omdat men den Bacteriophagaag het meest vindt bij ziekten, die diarrhee veroorzaken. Bovendien krijgt men bij diarrhee een verhoogde trypsine afscheiding, welke trypsine volgens *Borchardt* ook gunstig op de vorming van Bacteriophagaag zou werken. De faeces bevatten een Bacteriophagaag V, die goed werkzaam was op de culturen D en H. In de onderstaande tabel zijn deze culturen en de tegen hen werkzame Bacteriophagen vereenigd:

	I	II	III	B	A	IV	V
A	+	—	—	—	—	+	—
B	—	—	+++	+	++	++	—
C	—	—	—	—	—	—	—
D	—	—	—	—	—	++	+++
E	—	—	—	—	—	—	—
F	+++	—	—	—	—	—	—
G	—	—	—	—	—	+	—
H	—	++	—	—	—	—	++++

+ is zwak, ++ 6 uur helder, +++ 24 uur helder, ++++ langer dan 24 uur helder.

We zien dus dat er tegen de stammen C en E geen Bacteriophagaag gevonden was, tegen A en G slechts zwak werkende Bacteriophagen, tegen B, D, F en H allen tenminste 1 Bacteriophagaag, die goed werkte.

Een bijzonderheid van den Colibacteriophagaag was de volgende: de Bacteriophagaag III was werkzaam op de cultuur B. Deze werd 24 uur helder gehouden. Nadat de cultuur B ongeveer 20 maal was overgeënt, bleek de Bacteriophagaag de cultuur in het geheel niet meer op te lossen.

Toen de Bacteriophagaag tegen een niet overgeënte reservecultuur werd beproefd, bleek hij deze nog steeds op te lossen. De Bacteriophagaag was dus niet veranderd, de bacil was echter tijdens het overenten resistent geworden en ondanks vele passages was de Bacteriophagaag niet meer tot zoo'n virulentie op te voeren, dat hij de bacil oploste.

Kalf 384 kreeg kort na de geboorte 5 cc. bouilloncultuur van de stam H met wat melk per os ingegeven, om te probeeren of de infectie experimenteel tot stand was te brengen. Eenige uren later kreeg het de eerste biest. Hiermee werd eenige uren gewacht, om de bacillen tijd te geven in te dringen, want zoodra het kalf biest heeft gedronken zijn maag en darm tot activiteit geprikkeld en daardoor resistenter tegen de infectie geworden.

Bovendien wordt dan het meconium, dat een goede voedingsbodem, voor de bacteriën is, verwijderd. Men kan ook in het geheel geen biest voeren, maar daardoor wordt het kalf zeer zwak en sterft dan vaak zonder eenige infectie. De ingegeven stam was uit een kalf gekweekt, dat aan Colibacillosis gestorven was, maar op dit kalf had het niet het minste effect. De temperatuur bleef, evenals de pols en de ademhaling sleeds normaal, terwijl het dier nooit eenige ziekteverschijnselen vertoonde.

Muis 901 werd subcutaan ingespoten met 0.3 cc. van een 24 uur oude bouilloncultuur van den stam H. 5 uur later was de muis zwaar ziek en werd gedood. Uit alle organen werd een Colibacil gekweekt, die door den Bacteriophag V opgelost werd; deze bacil was dus waarschijnlijk van denzelfden stam als de ingespoten bacil.

Kalf 386 kreeg kort na de geboorte 20 cc. van een bouilloncultuur van den stam H., na de passage door een muis. Evenals bij het vorige kalf kreeg dit dier eenigen tijd later de eerste biest. Den volgenden dag werd een faecesmonster van het kalf onderzocht op de aanwezigheid van Bacteriophag en Colibacillen. Uit de faeces werd een reincultuur van Colibacillen gekweekt. Deze werden samengebracht met faecesextract en met den Bacteriophag V. Tevens werd de plavorming onderzocht. De werking van den Bacteriophag V en van den Bacteriophag, welke de faeces bleken te bevatten, was volkomen gelijk, terwijl ze gelijksoortige plaves vormden. Het kalf vertoonde verder geen ziekteverschijnselen.

Kalf 387 kreeg eenige uren na de geboorte 20 cc. van een

bouilloncultuur van den stam H. Om te voorkomen dat een Bacteriophaga het dier zou besmetten, kreeg het kalf geen biest, maar alleen gekookte melk, terwijl de stal grondig ontsmet werd en het kalf een muilkorfje voor kreeg, waardoor opname van het bodemvuil voorkomen werd. Het meconium, dat kort daarna afging, was steriel en bevatte ook geen Bacteriophaga. 3 dagen later werd weer een faecesmonster onderzocht. De Colibacillen, die er in zaten, werden niet opgelost door den Bacteriophaga V, zoodat dit waarschijnlijk een andere Colistam is. In de faeces kwam ook een Bacteriophaga voor, die deze bacillen wel oploste en tevens den stam H. oploste. Na 6 dagen stierf het kalf in coma, zonder echter diarrhee vertoond te hebben. De hoogste temperatuur was 39.6 geweest, den dag voor het sterven. De huid lag vast, de haren waren glansloos en stonden overeind.

Bij de sectie bleek de milt gezwollen te zijn, de lever was bloedrijk en gedegenereerd en in de rechterkamer van het hart zat een bloedstolsel.

Uit milt, lever, hart en nier werden Colibacillen gecultiveerd, terwijl uit de milt en lever een extract werd vervaardigd ter onderzoek op Bacteriophaga. Dit extract en de Bacteriophaga V werden beproefd tegen de Bac. Coli, die uit de nier gekweekt was. Beiden losten dezen Colistam op, zoodat dit waarschijnlijk de oorspronkelijk ingegeven stam was, daar ook de Bacteriophaga V er op werkt. De Bacteriophaga uit het miltextract werkt echter slechts zwak op deze Coli en lost den stam H. in het geheel niet op, zoodat dit waarschijnlijk een andere Bacteriophaga is.

De bacillen uit de faeces werden niet opgelost door den Bacteriophaga V, wel door den Bacteriophaga uit het miltextract. Waarschijnlijk is dus na de infectie met den stam H., een andere bacil binnengedrongen met een Bacteriophaga, die er op werkte. Deze bacil had in het geheel geen virulentie en bleef in den darm, terwijl de tevens binnengedrongen Bacteriophaga zich aan de ingegeven Colistam aanpaste en haar op ging lossen. Deze stam had onder de slechte om-

standigheden, waarin het kalf verkeerde, virulentie genoeg om in het lichaam te dringen, zonder echter duidelijke verschijnselen van Colibacillosis te voorschijn te roepen.

Kalf 391 kreeg kort na de geboorte 5 cc. van een mengsel van Bacteriophagen I, II, III, IV en V subcutaan geïnjecteerd. Deze Bacteriophagaculturen waren ongeveer 3 weken oud. Eenige uren later was het kalf zwaar ziek, vertoonde rillingen, had diarree en lag tenslotte in coma. De temperatuur was niet verhoogd, de pols en de ademhaling echter versneld. 12 uur later was het dier weer geheel genezen; na 4 dagen werd het gezond verkocht. De toxinen, die in de Bacteriophagaculturen aanwezig zijn, kunnen dus een kalf alle symptomen van Colibacillosis geven, in dit geval zonder doodelijken afloop. Was echter meer ingespoten of een versch gemaakte Bacteriophag gebruikt, dan zou de dood ongetwijfeld gevolgd zijn. Als men namelijk versch gemaakte Bacteriophag neemt, dan zitten de toxinen nog nagenoeg onveranderd daarin, zoodat deze vloeistof te vergelijken is met een emulsie van gedoode of opgeloste bacteriën. Bij het ouder worden van de vloeistof ziet men echter dat de toxinen onder invloed van de lysinen, die door den Bacteriophag afgescheiden worden, veranderen en hun toxiciteit verliezen. Dit is door *d' Hèrelle* aangetoond voor Shiga-bacillen en bleek later ook voor andere bacteriën op te gaan.

Kalf 392. Dit kalf kreeg kort na de geboorte 50 cc. van een mengsel van de Bacteriophagen III, IV en V per os, daarna nog 10 cc. van een mengsel van de bouillon-culturen van alle Colistammen. De voortemperatuur was 38.4, 's avonds na het ingeven 39.0 en toen was het dier reeds ziek. Den volgenden ochtend was de temperatuur 39.1 en had het kalf diarree. In den loop van dien dag stierf het dier in coma.

Bij de sectie werd het volgende gevonden: een lichte miltzwellling en leverdegeneratie, terwijl het heele darmkanaal haemorrhagisch ontstoken was. Uit hart, milt, nier en faeces werden Colibacillen gecultiveerd, terwijl uit lever, nier, milt en faeces een extract voor het onderzoek op Bacteriophag

merd gemaakt. 8 aparte koloniën werden voor een nader onderzoek uitgezaaid en daarna beproefd tegen de Bacteriophagen III, IV en V en tegen het extract. De Bacteriophaga III werkte op de koloniën 1 en 3, IV en V werkten op geen enkele kolonie, en het faecesextract werkte op de kolonie 3.

Het extract werd beproefd tegen de laboratoriumstammen en bleek de stammen B en H iets op te lossen.

De bacteriophaga was dus in virulentie achteruit gegaan, daar de ingegeven bacteriophagen veel sterker werkten.

De Bacteriophaga kon dus een kalf niet tegen een infectie beschutten.

Uit de vorige proeven bleek, dat een bacil, die niet resistent is tegen een Bacteriophaga, zoodra zij ingegeven wordt een Bacteriophaga opwekt, zelfs al neemt men maatregelen om besmetting met Bacteriophaga te voorkomen, en dat men daardoor met een niet resistenten stam geen infectie tot stand kan brengen. Toen echter tevens stammen ingegeven werden, waartegen geen Bacteriophaga was gevonden, dus waarschijnlijk resistente stammen, trad, ondanks de aanwezigheid van verschillende Bacteriophagen, toch ziekte op. Daar er steeds spontaan Bacteriophaga bij komt, heeft het ook geen nut Bacteriophaga te voeren of in te spuiten.

Om nu de virulentie der verschillende stammen na te gaan werden 2 muizen, een witte en een bruine, met 0.3 cc. bouilloncultuur van elke stam subcutaan ingespoten. Na 2 dagen stierf de witte muis ingespoten met stam D, na 3 dagen die, welke met stam E was ingespoten. Beide muizen vertoonden een enteritis en uit de organen kon *Coli* gekweekt worden.

De bruine muis ingespoten met stam A stierf na 1 week met een groote huidwond ter plaatse van de injectie. Ook hier konden *Colibacillen* uit de organen gekweekt worden; er kwam geen enteritis voor.

De witte muis ingespoten met stam C stierf na 14 dagen cachectisch aan een enteritis en ook hier konden *Colibacillen* uit de organen gekweekt worden.

Dus stam A, C, D en E bleken virulent genoeg om een

muis te doodden. Behalve stam D zijn dit juist de stammen, waartegen geen Bacteriophag gevonden werd, dus de resistente stammen. Stam G zou ook resistent zijn, maar heeft toch geen muis kunnen doodden.

Daarna werd nog telkens 1 muis met 0.3 cc. bouilloncultuur van elken stam intraperitoneaal ingespoten. Hierdoor stierven alle muizen. Uit de organen was Coli te kweken. Behalve de muis, ingespoten met stam E, had geen der muizen een enteritis. Deze zijn waarschijnlijk door de toxinen gestorven, want allen waren reeds na 12 uur gesuccumbeerd.

Poels schreef reeds, dat er waarschijnlijk 2 soorten Colibacillen zijn: een soort, die niet virulent is en dit niet kan worden en dus geen ziekte kan veroorzaken, en een soort, die virulent is of in korten tijd virulent kan worden, welke de Colibacillosis veroorzaakt.

Bovenstaande proeven geven wel aan, dat men het woord virulent door resistent mag vervangen, zoodat alleen resistente Colistammen, of de stammen, die de kracht hebben om snel resistent te worden, ziekte kunnen opwekken.

De stammen, die onderhevig zijn aan de werking van den Bacteriophag blijven saprophytisch en worden niet pathogeen. Dit is wel gebleken uit de onderzoekingen van *Sickenga*, bij gevallen van Colipyelitis van kinderen, waarbij steeds Colistammen werden gevonden, die resistent waren of snel werden tegen den Bacteriophag en die ook vaak reeds tezamen met een Bacteriophag werden gevonden.

D. Paratyphus bij biggen

Volgens *Hutyra* en *Marek* is Paratyphus der biggen zeer diersoortspecifiek; een stam, die virulent is voor biggen, is het niet voor kalveren en omgekeerd. In hoofdzaak veroorzaakt de Paratyphus alleen ziekte bij jonge dieren.

Bij biggen treedt een enzoötische stalinfectie op, met een diphtherische ontsteking van het darmkanaal, voornamelijk van den dikken darm in de omgeving van het coecum. De ziekte wordt veroorzaakt door de *Bacillus Supestifer* Vol-dachsen, welke melk noch druivensuiker vergist. Normaal komt hij in alle darmen voor; voor de infectie van volwassen dieren is een zekere praedispositie noodig, b.v. zware vermoeienis, verandering van voedsel.

Bij de sectie vindt men, behalve de diphtherische ontsteking van het darmkanaal, gezwollen mesenteriale lymfheklieren en follikels in den dikken darm. Deze laatste ontwikkelen zich vaak tot „boutons”. In de longen ziet men vaak een catharale pneumonie, waarbij al spoedig verkazing optreedt.

Ik heb beproefd of de Bacteriophaga ook therapeutische waarde had bij de Paratyphusinfectie van biggen. Dit is slechts in twee gevallen gedaan, namelijk eenmaal bij een koppel biggen, die kunstmatig was geïnfecteerd en eenmaal bij een koppel biggen, waaronder de ziekte heerschte tengevolge van een natuurlijke infectie. Aangezien in beide gevallen het resultaat absoluut negatief was, zijn deze proeven niet verder voortgezet.

De proeven werden gedaan met den Pullorumbacteriophaga B. Eerst werd zijn werking op Paratyphusstammen uit varkens en biggen beproefd. Daarvoor stonden mij 8 stammen ter

beschikking. 5 hiervan werden volkomen opgehelderd en bleven 24 uur helder, 1 werd slechts een weinig opgelost, maar nooit geheel helder.

De 2 andere culturen waren volkomen resistent, hoewel de Bacteriophaga zich wel vermenigvuldigde in hun culturen.

Voor de kunstmatige infectie werd een paratyphusstam genomen, waar de Bacteriophaga goed op werkte. Een bouilloncultuur hiervan werd aan 1 big uit een koppel van 6, anderhalve maand oude biggen door het voer gegeven, om te zien of de infectie aansloeg. De avondtemperatuur was 39.6, maar den volgenden dag weigerde het dier het voer en had 's morgens een temperatuur van 41.1, 's avonds 40.3. Den daarop volgenden dag was de temperatuur 39.5 en 39.9 en was het dier weer gezond. Dit is gedurende de volgende 3 weken dat het dier opgenomen is, zoo gebleven.

3 dagen nadat deze big geïnfecteerd was, kregen de 5 andere biggen een cultuur door het voer, terwijl 4 ervan subcutaan resp. 0.1, 0.5, 2 en 5 cc. Bacteriophaga ontvingen. De onderstaande temperatuurslijsten spreken voor zich zelf.

Contrôle		Bacteriophaga							
		0.1 cc.		0.5 cc.		2 cc.		5 cc.	
morgen	avond	morgen	avond	morgen	avond	morgen	avond	morgen	avond
+	39.4	+	38.7	+	39.1	+	38.9	+	39.4
39.1	40.5	38.9	39.5	38.7	40.2	39.5	41.1	39.4	41.8
40.2	41.1	41.5	39.3	41.1	41.5	40.8	40.6	39.6	40.5
39.6	39.7	40.6	41.1	40.4	39.8	40.3	41.8	40.6	40.4
39.0	39.0	39.8	40.8	39.5	40.8	40.0	39.8	40.6	40.0
38.9	38.9	40.4	39.9	40.4	40.1	40.0	39.8	40.6	40.0
38.8	39.4	40.5	40.0	39.6	39.6	39.7	39.5	39.8	39.5
39.1	38.8	39.9	38.4	39.7	41.0	41.5	41.2	39.5	39.9

+: geïnfecteerd.

Zooals uit bovenstaand lijstje blijkt, zijn de met Bacteriophaga ingespoten varkens er veel slechter aan toe dan de 2 contrôles. De contrôles hebben een en anderhalve dag koorts

gehad, terwijl ze in dien tijd weinig of niet aten; daarna waren alle ziekteverschijnselen verdwenen. De met Bacteriophagaag behandelde dieren hadden veel langer koorts en ook duurde het langer voor hun eetlust terugkeerde. Bovendien vertoonden deze van tijd tot tijd diarrhee, terwijl op ongeregelde tijdstippen de koorts weer optrad. Deze toestand hield 3 weken aan. De contrôles waren in dien tijd goed gegroeid, terwijl van de met Bacteriophagaag behandelde een, die 2 cc. Bacteriophagaag had gehad, zeer slecht groeide, en bijna voortdurend diarrhee vertoonde, een, die was ingespoten met 0.5 cc. Bacteriophagaag iets beter was en maar weinig slechter was als de 2 anderen, die weer iets kleiner waren gebleven dan de 2 contrôles. De 2 kleinsten zijn afgemaakt 3 weken na het begin der proef, namelijk degenen die 0.5 en 2 cc. Bacteriophagaag ontvangen hadden. Eén varken, dat 2cc. ontvangen had, was het kleinst gebleven.

Diens sectie leverde de volgende afwijkingen op: een fibrineuze, adhaesieve peritonitis, die gelocaliseerd was op het colon.

In den blinden darm en het aangrenzende colon, kwamen uitgebreide necrotiseerende zweren voor, terwijl verderop in het colon vele erwitgroote boutons zaten, met een necrotisch puntje in het centrum. De mesenteriale klieren waren vergroot en zeer vochtig. De culturen uit de mesenteriale klieren leverden een reincultuur van paratyphus op, en wel in de eigenaardige „Flatterformen”, welke wijzen op een gemengde cultuur. Inderdaad bleken de mesenteriale klieren ook Bacteriophagaag te bevatten. Uit geen der andere organen was Paratyphus te kweken.

Het varken, dat 0.5 cc. Bacteriophagaag ontvangen had, werd tegelijkertijd afgemaakt. Het was grooter dan het vorige. De sectie leverde de volgende afwijkingen op: de milt was licht gezwollen, in de dikke darm kwamen boutons ter grootte van een gierstkorrel voor, ook met een klein necrotisch puntje in het centrum. Noch uit de organen, noch uit de lymfeklieren was Paratyphus te kweken. Ook Bacteriophagaag was niet aantoonbaar.

Als we deze secties en de toestand van de varkens vergelijken, mogen we wel aannemen, dat de andere varkens niets meer vertoonden en dus volkomen genezen was.

De injectie met Bacteriophag heeft dus de varkens meer vatbaar gemaakt voor infectie. Zij werden er zieker door en bleven langer ziek.

In de praktijk is nog één proef gedaan bij een koppel van 21 biggen van 2 maanden oud. Een der biggen was reeds gestorven. Verder was er nog één zieke; deze had een temperatuur van 41.2 en zeer dunne stikkende diarrhee. Uit zijn faeces kon Paratyphus gekweekt worden, welke stam opgelost werd door den Bacteriophag, terwijl er geen Bacteriophag aantoonbaar was in de faeces.

De zieke werd behandeld door hem 1 eetlepel Bacteriophag in te geven, terwijl de anderen Bacteriophag door het voer kregen. 2 dagen later was ook de zieke gestorven; de overigen werden door een collega met methyleenblauw verder behandeld en daaronder trad geen ziekte meer op.

Dus ook hier was het resultaat negatief; het zieke varken werd niet beter, misschien werden de gezonde varkens een weinig tegen de infectie beschut, maar dit is niet als een vaststaand feit aan te nemen, aangezien dit ook door het methyleenblauw kan komen.

De Bacteriophag werkt bij Paratyphus der biggen absoluut niet curatief, noch beschuttend bij experimenteele infectie.

Nadere onderzoekingen bij spontane infecties dienen nog te geschieden.

E. Paratyphus bij muizen

Hierover is nog slechts weinig literatuur verschenen. Eerst werd het gebruikt door *Amos* en later door *Topley* voor het bewijzen der wetten bij epizoötiën. Toen het in gebruik kwam voor rattenverdelgung onder den naam *Ratin*, is er meer over geschreven, voornamelijk over de deugdelijkheid als verdelgingsmiddel en over de vraag of het ook besmettelijk is voor menschen. *Ratin* is een *Paratyphus* Gärtnerstam met een groote virulentie voor muizen. Zeer kleine hoeveelheden subcutaan of per os dooden de dieren in 2—6 dagen. Deze virulentie neemt echter bij voortdurend overenten snel af. Bij de zieke muizen kan men een conjunctivitis waarnemen en verschijnselen, die op koorts wijzen. Bij de sectie kan men veelal niets meer vinden als een miltzwelling, terwijl men uit alle organen de bacil kan kweeken.

Bij de volgende proeven is gebruik gemaakt van een stam van het verdelgingsmiddel *Ratin* en de *Paratyphusbacteriophaga* B. Deze *Bacteriophaga* loste een emulsie van *Ratin*-bacillen in bouillon volkomen op en hield hem 24 lang helder. Daarna trad secundaire groei in.

Eerst werd getracht de minimale doodelijke dosis bij subcutane injectie te bepalen. Hierbij werd gebruik gemaakt van culturen, die kort tevoren door een muis gepasseerd waren. 2 muizen, welke ingespoten waren met 0.3 cc. van een 24 uur oude bouilloncultuur, stierven beiden binnen 24 uur. 2 muizen ingespoten met 0.01 cc. van deze cultuur stierven na 4 en na 5 dagen; 2 muizen ingespoten met 0.001 cc. stierven na 1 dag en 9 dagen; 2 muizen ingespoten met 0.0001 cc. stierven na 1 dag en na 11 dagen; 2 muizen met 0.00001 cc.

stierven na 6 en na 11 dagen. Lagere doseeringen werden niet beproefd.

Daarna werden 4 muizen met de laagste dosis ingespoten en 2 ervan werd bovendien subcutaan 0.3 cc. Bacteriophag ingespoten. De 2 contrôlemuizen stierven na 9 en 11 dagen, de 2 met Bacteriophag ingespoten muizen stierven beiden na 10 dagen. De Bacteriophag had hier dus in het geheel geen werking uitgeoefend.

Al deze muizen leverden het volgende sectiebeeld: een enteritis, een gezwollen, bloedrijke lever en een vergroote milt. Bovendien werden uit hart, lever milt en longen culturen aangelegd, welke allen rijkelijk en bijna steeds in rein-cultuur de Paratyphusbacil gaven. De eenige uitzondering was de muis, die ingespoten was met 0.0001 cc. cultuur en die den volgenden dag reeds gestorven was. Hier kon geen Paratyphus uit gekweekt worden, zoodat het dier waarschijnlijk door een andere oorzaak gestorven is. Het onderzoek op de aanwezigheid van Bacteriophag bij deze muizen verliep, behalve bij de met Bacteriophag ingespoten muizen, steeds negatief.

Nu werd getracht de muizen per os te infecteeren, door brood te voeren, dat in een 24 uur oude bouilloncultuur van Ratin gedrenkt was. 2 op deze manier geïnfecteerde muizen stierven na 4 en 7 dagen tengevolge van een Paratyphus-infectie, zooals uit de sectie en de culturen bleek. Nu werden 14 muizen geïnfecteerd met Bacteriophag of cultuur, door brood in een van beide te drenken en daarna met verschillende lange tusschenpoozen nogmaals geïnfecteerd met respectievelijk cultuur of Bacteriophag op dezelfde manier.

2 met cultuur gevoerde contrôlemuizen, die geen Bacteriophag ontvingen, stierven 5 en 6 dagen na de infectie. 2 andere contrôlemuizen, die alleen met Bacteriophag gevoerd werden, stierven niet, 2 muizen, die eerst met Bacteriophag en na 3 dagen met cultuur gevoerd waren, stierven ook 5 en 6 dagen na de infectie, 2 muizen, die eerst met Bacteriophag en den volgenden dag met cultuur

gevoerd waren, stierven ook 5 en 6 dagen na de infectie; 2 muizen, die eerst met cultuur en den volgenden dag met Bacteriophagaag gevoerd waren, stierven 6 en 8 dagen na de infectie; 2 muizen, die eerst met cultuur en 3 dagen later met Bacteriophagaag gevoerd waren, stierven 5 en 7 dagen na de infectie; verder werden nog 2 muizen met cultuur gevoerd, en toen deze 4 en 5 dagen na de infectie ziekteverschijnselen vertoonden, werden zij subcutaan met 0.3 cc. Bacteriophagaag ingespoten; beiden stierven echter een dag na de injectie.

Bij alle gestorven muizen was een enteritis aanwezig, de milt was vergroot en uit de organen kon Paratyphus gekweekt worden.

Dus ook bij deze wijze van infectie had de Bacteriophagaag geen therapeutische werking. Blijkbaar is de bacil zoo virulent dat enkele bacillen, onverschillig of er Bacteriophagaag aanwezig is of niet, reeds den dood veroorzaken.

Om na te gaan of men met deze bacil ook een epidemie kon opwekken, werd een muis gevoerd met brood gedrenkt in Ratinbouillon, waarna hij bij 4 andere muizen gezet werd.

Na 8 dagen was de met cultuur gevoerde muis gestorven aan een Paratyphusinfectie. 14 dagen, nadat de geïnfecteerde muis in de kooi geplaatst was, stierven 2 muizen en na 21 dagen nog één. Bij allen was de milt vergroot en werden Paratyphusbacillen uit de organen gekweekt. De vierde muis bleef in leven.

Deze proef werd herhaald; 2 muizen werden per os geïnfecteerd, door hen met Ratin gedrenkt brood te voeren. Elk dezer muizen werd in een kooi bij 5 andere muizen geplaatst. In een dezer kooien werd brood gevoerd, dat in Bacteriophagaag gedrenkt was. Na 5 dagen was de geïnfecteerde muis uit de contrôlekooi gestorven, na 9 dagen de geïnfecteerde muis uit de kooi, waarin Bacteriophagaag werd gevoerd, beiden aan een Paratyphusinfectie. Uit de contrôlekooi stierf 30 dagen na het begin der proef nog 1 muis aan een Paratyphusinfectie, de overige muizen bleven gezond.

De epizoötie verliep hier niet zoo heftig als in de vorige proef, misschien omdat de kooien hier veel grooter waren dan in de vorige proef, waardoor de smetstof meer verspreid werd en de kans tot het opnemen ervan geringer werd.

Bij Paratyphus der muizen heeft de Bacteriophagaag in het geheel geen curatieve of preventieve waarde voor elk individu afzonderlijk. Bij de proef, waarbij zijn werking tijdens een enzoötie werd nagegaan, schijnt wel eenige beschuttende werking van den Bacteriophagaag uit te gaan. *Topley*, die soortgelijke proeven veel uitgebreider nam, komt tot de conclusie, dat de Bacteriophagaag bij een epizoöte van Paratyphus der muizen in het geheel geen rol speelt.

HOOFDSTUK V

GERAADPLEEGDE LITERATUUR

- F. d' Hérelle.* Le bacteriophage, son role dans l'immunité.
F. d' Hérelle. The bacteriophage and its role in immunity.
F. d' Hérelle. Immunity in natural infectious diseases.
Angerer v. Beitrage zum Bakteriophagenproblem. Arch. f. Hyg. 1924, bnd. 92, blz. 1.
Appelmans. Le dosage du bactériophage. C. R. de S. de B. 1921, t.m. 85, blz. 1098.
Appelmans. Quelques applications de la méthode de dosage du bactériophage. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 508.
Arnold—Weiss. A study of Bacteriophage with antibacteriophagic serum. Journ. of Infect. Diseas. bnd. 35, blz. 505.
Arnold—Weiss. The resemblance of bacteriophage to toxins and ferments. Journ. of Infect. Diseas. bnd. 35, blz. 603.
Babiet. Sur le principe bactériophage de d' Hérelle. C. R. de S. de B. 1920, t.m. 83, blz. 1322.
Bail. Ueber Shiga-bakteriophagen. Wien. Klin. Woch. 1921, blz. 555.
Bail. Versuche über die Vielheit des Bakteriophagen. Zeitsch. f. Immun. Forsch. bnd. 38, blz. 57.
Bail. Untersuchungen über die Maximum Konzentration von Bakterien und Bakteriophagen. Arch. f. Hyg. bnd. 94.
Bail—Okuda. Der Abbau lebender Bakterien durch Bacteriophagen. Arch. f. Hyg. 1924, bnd. 92, blz. 251.
Beckerich—Hauduroy. Le bactériophage dans le traitement du fièvre typhoïde. C. R. de S. de B. t.m. 86, blz. 108, 1922.
Beckerich—Hauduroy. Au sujet du titrage. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 165.

- Beckerich—Hauduroy.* Sur l'optention de bactériophage par l'antagonism microbien. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 1124.
- Beckerich—Hauduroy.* Le bactériophage de d' Hérelle etc. Journal of Bact. 1923, blz. 163.
- Bergstrand.* Sur la lyse microbienne transmissible. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 489.
- Biemond.* Einige Bakteriophagenuntersuchungen. Zeitsch. f. Hyg. und Infekt. 1924, bnd. 103, blz. 164.
- Blair.* A lytic principle for *Corynebacterium diphtheriae*. Journal. of Infect. Diseas. bnd. 35, blz. 505.
- Borchardt.* Biologosche Beitrage zum d' Hérelle'schen Phänomen Zeitsch. f. Immun. Forsch. bnd. 37, t.l. origin. blz. 1.
- Bordet—Ciuca.* Le bactériophage de d' Hérelle, son production et son interprétation. C. R. de S. de B. 1920, t.m. 83, blz. 210 en 471.
- Botez.* La bactériolyse en série par le violet de méthyl. C. R. de S. de B. 1921, t.m. 85, blz. 585.
- Brutsaert.* Les bactériophages et les microbes dans le bouillon hypersalé. C. R. de S. de B., bnd. 90, blz. 646.
- Brutsaert.* Le bactériophage dans les milieux gélatinés. C. R. de S. de B., bnd. 90, blz. 1292.
- Brutsaert.* L'agglutination des microbes résistants. C. R. de S. de B. bnd. 90, blz. 645.
- Bruynoghe—Maisin.* Essais de thérapeutique au moyen du bactériophage staphylococce. C. R. de S. de B. 1921, t.m. 85, blz. 292.
- Bruynoghe—Maisin.* Au sujet de la réaction consécutive à l' injection du bactériophage. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 294.
- Bürgers—Bachmann.* Bakteriophagenstudien. Zeitsch. f. Hyg. u. Inf. 1924, bnd. 101, blz. 350.
- Ciuca.* Lyse transmissible en libre absense d' electrolytes. C. R. de S. de B. T. 90, blz. 521.
- Ciuca-Manoliu.* Action inhibitrice du filtrat de cultures et lyse transmissible au cours de la fièvre typhoïde. C. R. de S. de B., bnd. 91, blz. 1225.
- Costa Cruz da.* L'influence du Ph sur la lyse par le bactériophage. C. R. de S. de B. t.m. 90, blz. 481.
- Doerr—Grüniger.* Studien zum Bakteriophagenproblem. Zeitsch. f. Hyg. u. Inf. 1922, bnd. 97, blz. 209.
- Dutton.* Role of the bacteriophage in *Streptococcus* infections. Journ. of Infect. Diseas. Vol. 39, no. 1.

- Eliava—Pozerski.* De l' action destructive des sels de quinine sur le bactériophage de d' Hérèlle. C. R. de S. de B. 1921, t.m. 85, blz. 139.
- Fejgin.* Examen de quelques souches isolées des Cobayes inoculés avec le Bactériophage anti HX19. C. R. de S. de B., t.m. 90, blz. 1202.
- Fejgin.* Recherches sur le typhus exanthématique experimental. C. R. de S. de B., t.m. 90, blz. 1200.
- Flu.* De vorming van bacteriophagen in oude bouillonculturen van pathogene darmbacteriën en de natuur van den bacteriophagaag. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1923, bnd. 67 II, blz. 226.
- Flu.* Een methode voor het onderzoek van reïnculturen op besmetting met een bacteriophagaag. Tijdschr. voor Vergel. Geneesk. 1924.
- Flu.* Over Cholera-bacteriophagen. Tijdschr. v. Vergel. Geneesk. 1924.
- Flu.* Kunnen bacteriophagen door een 3 0/0 agargel diffundeeren? Tijdschr. v. Vergel. Geneesk. 1924.
- Flu.* Over de termoresistentie van bacteriophagen enz. Tijdschr. v. Vergel. Geneesk. 1924.
- Flu.* Complementsbindingen met konijnenserum tegenover bacteriophagaag en bacterieextracten. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1925, bnd. 69 II, no. 21.
- Flu.* Is bacteriophagie een functie van de bacteriën afhankelijk van de temperatuur, waarbij men ze kweekt? Ned. Tijdschr. v. Hyg. bnd. 1, no. 12, blz. 10.
- Gercke.* Untersuchungen über die Frage nach die Flüchtigkeit der Bakteriophagenlysine. Centralbl. f. Bakt. 94, T. I. Orig. 387.
- Gildemeister.* Ueber das d' Hérèlle'schen Phänomen. Berl. Klin. Woch. 1921, bnd. 58, blz. 1355.
- Gildemeister.* Weitere untersuchungen über das d' Hérèlle'schen Phänomen. Centralbl. f. Bakt. bnd. 89, Origin. blz. 181.
- Gildemeister—Herzberg.* Zur Theorie der Bakteriophage. Centralbl. f. Bakt. 1924. Origin. bnd. 93, abt. I.
- Gratia.* La lyse transmissible du staphylococce. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 276.
- Gratia.* Actions lytiques des Staphylococce, vivant sur les Staphylococces tuées. C. R. de S. de B., t.m. 95, blz. 734.
- Gratia—Jaumin.* Au sujet des réactions consécutives au injections de principe lytique staphylococcique. C. R. de S. de B., 1922, t.m. 86. blz. 519.
- Gohs.* Eine neue Theorie der Bakteriophagenwirkung und ihre Beziehung zu Immunität, Anaphylaxie und Verdauung, Zeitschr. f. Immun. Forsch. bnd. 47, H. I.

- Gougerot—Peyre.* Le bactériophage dans le traitement des affections cutanées. C. R. de S. de B., bnd 91, blz. 452.
- Hadley.* Infections caused by Bac. Pullorum in adult fowls. Agrc. Exp. State of the Rhod. Isl. State Coll. Bull. 172.
- Hadley.* Colontyphoid intermediates as causative agents of disease in birds. Agric. Exp. State of the Rhode Isl. State of the Coll. Bull. 174.
- Hadley.* A method of staining lytic areas produced by the Bacteriophage. Journ. of Bact., bnd 9, blz. 405.
- Hadley.* Proliferative reaction to stimuli by the lytic principle and its significance. Journ. Diseases., bnd. 37, blz. 35.
- Hajos* Untersuchungen über die Natur der Bakteriolytische Substanz. Zeitschr. f. Immun. Forsch., bnd. 37, T. I., orig., blz. 147.
- Hauduroy.* Influence de chauffage sur le bactériophage de d' Hérèlle. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 87, blz. 1089.
- Hauduroy.* Les cultures secondaires, après filtration dans le phénomène de d' Hérèlle. C. R. de S. de B. t.m. 91, blz. 1209—1325,
- Hauduroy.* Action de la gélatine sur le phénomène de d' Hérèlle. C. R. de S. de B. t.m. 90, blz. 1463.
- Hauduroy.* Le rôle du bactériophage dans la guérison de la fièvre typhoïde. La Presse med. bnd. 32, blz. 525.
- Herderschee—Wolff.* Geneeskrachtige waarden van de typhusbacteriophag. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1924, no. 24.
- d' Hérèlle.* Sur les antilysines d'origine bacterienne. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 360.
- d' Hérèlle.* Sur la présence du bactériophage dans les leucocytes. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 477.
- d' Hérèlle.* Sur la constance des propriétés du bactériophage. C. R. de S. de B., t.m. 90, blz. 481.
- Hoder.* Vergleichende Untersuchungen von Coli-, Dysenterie- und Paratyphusbakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93, Abt. I. origin.
- Hoder.* Ueber Zusammenhänge zwischen Bakteriophag und Bakteriemutation. Zeitschr. f. Immun. Forsch. bnd. 42, T. I. orig. 1927.
- Janzzen-Wolff.* Bacteriophagastudies. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1923, bnd. 67, no. II, blz. 147.
- Kabeshima.* Sur un ferment d'immunité bactériolysant. C. R. de S. de B. 1920, t.m. 83, blz. 210—471.
- Keller.* Ueber Lysin und Trypsin. Zeitschr. f. Hyg. und Infekt. 1924, bnd. 103, blz. 197.

- Kimura*. Ueber Schleimbildung bei Bakterien unter dem Einflusse von Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immun. Forsch 42, T. I. origin. blz. 507.
- Kramer*. Bijdrage tot de kennis van de rol van den Bacteriophaga bij de infectie en immuniteit. Dissertatie.
- Lisbonne—Boule—Carrère*. Sur l'optention du principe bactériophage au moyen d'exsudats leucocytaires in vitro. C. R. de S. de B. 1922, bnd. 86, blz. 430.
- Lisch*. Ueber die sogenannten Pyocyaneusbakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93. Abt. I origin.
- Loghen*. Bakteriophage und hämolytisches Endotoxin des Cholera Vibrio. Centralbl. bnd. 100, H. 1/3.
- Loghen—Piverelli*. Uitscheiding van Bacteriophaga door zeer jonge dieren. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1925, bnd. 69, no. 26.
- Mallman*. Old stock cultures as a source of bacteriophage. Journ. of Bact. 1925, Vol X. blz. 59.
- Marcuse*. Untersuchungen über das d' Hérelle'schen Phänomen. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 194, bnd. 101, blz. 350.
- Marcuse*. Grundlagen und Aufgaben der Lysintherapie. Deutsch. Med. Woch. 1924, blz. 334.
- Marcuse*. Untersuchungen über das d' Hérelle'schen Phänomen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1925, bnd. 101. H. I.
- Matsumoto*. Ueber das Verhalten konzentrierter Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immun. Forsch. 40. T. I. Origin. 1.
- Matsumoto*. Bestimmungsversuche von Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immun. Forsch. 41, T. I. Origin. 1.
- May*. The examination of eggs from infected and immunised hens Agric. Exp. State of the Rhod. Isl. State. Coll. 197.
- Meier*. Mond- en klauwzeerbacteriophaga. Tijdschr. v. Diergeneesk. 1925. Aflevering 7.
- Meiszner*. Versuche über die Flüchtigkeit und Kochbeständigkeit des d' Hérelle'schen Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. 92, T. I. Origin. 424.
- Meiszner*. Die Bindungsverhältnisse zwischen Bakteriophagen und Bakterien. Centralbl. f. Bakt. 1924. bnd. 93, blz. 489.
- Miesznier—Baars*. Bakteriolyse und das Phänomen von d' Hérelle. Deutsch. Tierärz. Woch. 1922, bnd. 30. blz. 207.
- Miesznier—Baars*. Das d' Hérelle'schen Phänomen an Rotlaufbakterien. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93. Origin. blz. 131.
- Much*. Ueber den Bac. cytolitis. München. Mediz. Woch. 72, blz. 374.

- Munter-Rasch*. Ueber die Natur des Bakteriophagenlysins. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1925, bnd. 101.
- Nakamura*. Die Hemmung der Bakteriophagenwirkung durch Gelatine. Arch. f. Hyg. 1924, bnd. 92, blz. 60.
- Necker de*. De l'influence de la chaleur sur le principe bactériophage. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 86, blz. 736.
- Newton*. Bacteriophagy in urinary infection. Journ. of Bact. 1926. Vol. XII, blz. 203.
- Norman*. The bacteriophage in relation to Salmonella Pullora infection in the domestic fowl. Journ. of Baet. Vol. XII, blz. 245.
- Ogata*. Zur Entstehung des Bakteriophagen in alten Kulturen. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93. Abt. I. Origin. 5.
- Okamata*. Untersuchungen über die Beziehungen des d' Hérèlle'schen Phänomen zum N-Stoffwechsel der Bakterien. Zeitschr. f. Immun. Forsch. 42. T. I. Orig. 197.
- Okuda*. Pyocyaneusbakteriophagen. Arch. f. Hyg. 1924, bnd. 92, blz. 109.
- Osumi*. Serologische Studien mit einen Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immun. Forsch. 39. T. I. Origin. 377.
- Otto—Munter*. Zum d' Hérèlle'schen Phänomen. Deutsch. Med. Woch. 1921, bnd. 47, no. 52.
- Otto—Munter*. Das Bakteriophagenlysin, seine Beziehungen zum Bakterium und zum Antilysin, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1922, bnd. 98, blz. 302.
- Otto—Munter—Winkler*. Beiträge zum d' Hérèlle'schen Phänomen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1922, bnd. 96, blz. 118.
- Pesch*. Milzbrand Pseudobakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93, blz. 525.
- Petrovannu*. Sur la présence du principe lytique dans l'exsudat amygdalien de diverses angines. C. R. de S. de B., t.m. 91, blz. 509.
- Pico*. Sur la nature du principe bactériophage de Twort d' Hérèlle. C. R. de S. de B. 1922, t.m. 87, blz. 1124.
- Pierret—Bilouet*. Le bactériophage de d' Hérèlle chez le nouveau-né. C. R. de S. de B., t.m. 95, blz. 301.
- Pondman*. Proeven tot het verkrijgen van het verschijnsel van d' Hérèlle uit reïnculturen. Dissertatie. Leiden.
- Prausnitz*. Untersuchungen über den d' Hérèlle'schen Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. bnd. 89. Origin. Beih. blz. 187.
- Prausnitz—Firle*. Neuere Untersuchungen über das Wesen des Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93, Origin. blz. 148.

- Prausnitz—Hille.* Die Vibriolyse ausserhalb des lebendes Körpers. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93. Origin. blz. 148.
- Procu.* La bactériolyse d'origine amibienne et le phénomène de d'Hérelle. B. R. de S. de B., t.m. 95, blz. 125—143.
- Rettger.* Bacillary White Diarrhea of young Chicks. Storrs Agric. Exp. State 77, 85, 88, 101.
- Rosenthal.* Analogie entre la Sporogénie et le Bactériophage. C. R. de S. de B., t.m. 95, blz. 612.
- Ruppel-Ornstein.* Ueber die Immunisierung gegen Schweinenrotlauf mit einem neuem keimfreiem Impfstoff u. s. w. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1923, bnd. 99, H. 2.
- Sardjito—Mas.* Immunisatie tegen bacillaire dysenterie door middel van bacteriophag antidyenterias Shiga-Kruse. Dissertatie.
- Sartorius.* Neuartig Lysine bei Mycoidesbakterien. Centralbl. f. Bakt. 1924, bnd. 93. Origin. blz. 143.
- Schuurman.* De bacteriophag een ultramicrobe. Dissertatie.
- Schwartzmann.* Studies en regeneration of bacteriophage. Journ. of Exp. Medic. Vol. 43, no. 6.
- Seiffert.* Das d'Hérelle'schen Phänomen als exogene Autolyse der Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1922, bnd. 93, blz. 482.
- Seiffert.* Der Charakter des d'Hérelle'schen Phänomens. Zeitschr. f. Immun. Forsch. 39. T. I. Origin. 292.
- Seiffert.* Die bewertung des d'Hérelle'schen Phänomens Seuchenbekämpfung 1925, bnd. 2. h. 5.
- Seiser.* Untersuchungen über das d'Hérelle'schen Phänomen. Arch. f. Hyg. 1924, bnd. 92, blz. 189.
- Sickenga.* Over de bacteriophag bij de Colpyelitis van kinderen. Ned. Maandschr. v. Geneesk. bnd. 13, no. 3 en 4.
- Spence—Mc. Kinley.* The therapeutic value of the bacteriophage in traetment of Bacillary Dysenterie. South. Med. Journ. 17, 563.
- Sumivoshi.* Bauchholenexsudat und Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immun. Forsch. 39. T. I. Origin. 377.
- Suzuki.* Künstlichen Infektion von Bakterien und Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immun. Forsch. bnd. 47. H. 2.
- Walle v. d.* Nieuwere onderzoekingen over den bacteriophag. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1923. Jrg. 67. II, no. 6.
- Watanaba.* Serologische Untersuchungen an Shiga-bakteriophagen. Zeitschr. f. Immun. Forsch. bnd. 37. T. I. Origin. blz. 106.

- Watanaba.* Des infektionsversuche mit Bakteriophagen. Arch. f. Hyg. 1924, bnd. 92, blz. 1.
- Weinberg—Azner.* Quelques faits nouveaux sur les autolysines. C. R. de S. de B. 1922. T. 87, blz. 135.
- Weinberg—Otolesco.* Autobacteriolysines et le phénomène de d' Hérelle. C. R. de S. de B. 1922. T. 86, blz. 833.
- Wolff—Janzzen.* Over den Typhusbacteriophaga. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1922. II, no. 17.
- Wolff—Janzzen.* Bacteriophagawerking in bloed. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1925, bnd. 69, II, no. 10.
- Wolff—Janzzen.* Ned. Tijdschr. v. Geneesk' 1925, bnd. 69, II, no. 11.
- Zdansky.* Kritische und experimentelle Beiträge zur Frage der Wirkungsmöglichkeit der Bakteriophagen im Warmblüterorganismus und in der freien Natur. Zeitschr. f. Hyg. u. Infek. 1924, bnd. 103, blz. 164.
- Zdansky.* Ueber die Bakteriophagie und die Möglichkeit ihrer therapeutischen Verwertung. Seuchenbekämpfung 1925, bnd. 2, blz. 150.
- Zoeller—Manosakis.* Kerato-conjunctivite expérimentale à Bac. pyocyannique et l'action d'un Bacteriophage antipyocyannique. C. R. de S. de B., t.m. 91, blz. 548.
-

STELLINGEN

I.

Het bestrijdingsmiddel „Ratin” tegen muizen en ratten levert bij een goede toepassing voor de huisdieren geen gevaar op.

II.

Coryza infectiosa en Diphtherie der kippen zijn aetiologisch twee verschillende ziekten.

III.

Voor de *Enterobius vermicularis* is een ontwikkelingsstadium buiten het gastheerlichaam niet noodzakelijk.

IV.

De klinische diagnose „Carcinoom van de anaalklieren” bij den hond wordt in de meerderheid van de gevallen door het pathologisch-anatomisch onderzoek niet bevestigd.

V.

Het preventief inspuiten van runderen met mond- en klauwzeerserum op markten in Nederland is practisch niet uitvoerbaar.

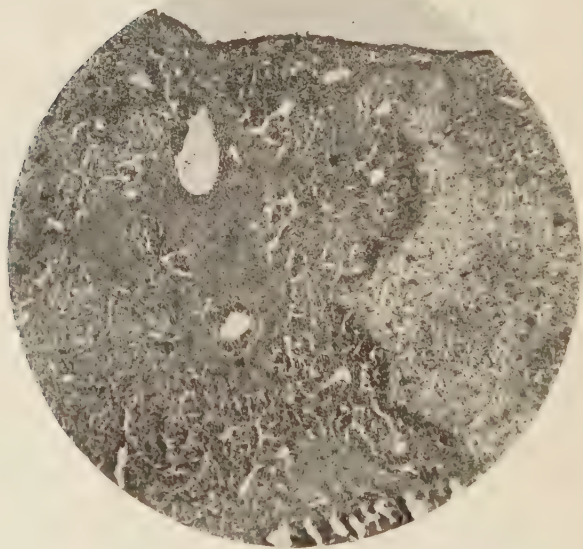
VI.

De toepassing van kruising in de teelt der landbouwhuisdieren ter verkrijging van F 1 producten als gebruiksdieren verdient voor ons land in het algemeen geen aanbeveling.



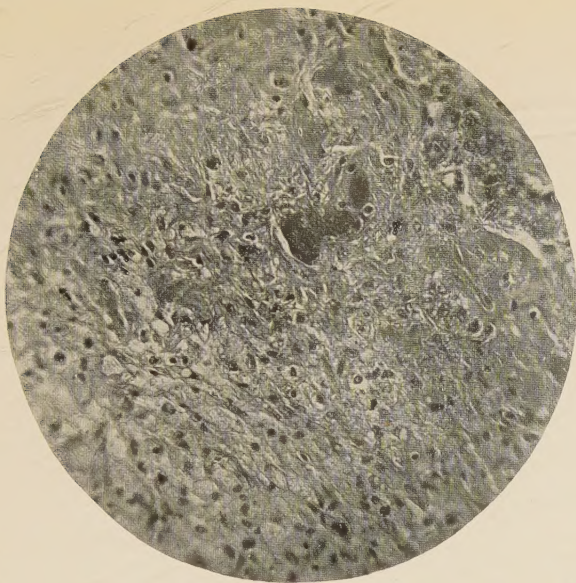
Afbeelding 1

Coupe van een hart met Pullorumhaardjes, vergrooting 37 maal met objectief Zeiss A. Boven epicard, onder normale hartspier, daartusschen een dikken zoom chronisch ontstekingsweefsel.



Afbeelding 2

Coupe van een lever met Pullorumhaardjes, vergrooting 55 maal met objectief Zeiss B. Boven de levergrens, rechts leverweefsel voor groot deel verdwenen op enkele celdetritus na; in het midden links celdetritus, eiwitneerslagen en exsudaatcellen, links onder nog normaal leverweefsel met eenige exsudaatcellen.



Afbeelding 3

Coupe van een leverhaardje, vergrooting 280 maal met Zeiss' histologische immersie $\frac{1}{7}$. Een massa van detritis, exsudaatcellen en eiwitneerslagen.



Afbeelding 4

Coupe van een leverhaardje, vergrooting 280 maal met Zeiss' histologische immersie $\frac{1}{7}$. Langs bovenrand nog eenige leverstructuur herkenbaar, overigens is deze vervangen door detritis, exsudaatcellen en eiwitneerslagen.

